

IMMUNSYSTEMETS MEKANISMER RELATERT TIL KREFT OG KREFTVAKSINE, SAMT EN VURDERING AV KREFTVAKSINE I KLINISK UTPRØVING



VEILEDER: GUSTAV GAUDERNACK

HENNING G. ØKLAND
VIKAS K. SARNA
KIARASH TAZMINI

UNIVERSITETET I OSLO, VED DET MEDISINSKE FAKULTET
SEPTEMBER 2004

INNHold:

<u>INNLEDNING</u>	<u>1</u>
HENSIKT MED OPPGAVEN:	1
HISTORISK PERSPEKTIV:	2
<u>GENERELL DEL</u>	<u>8</u>
PERSPEKTIV:	8
GENERELL IMMUNFYSIOLOGI:	8
KREFTUTVIKLING:	13
TUMORIMMUNOLOGI:	20
BEHANDLING OG FOREBYGGELSE AV KREFT MED VAKSINER:	26
<u>ARTIKKELDEL</u>	<u>30</u>
KLINISK FORSØK:	30
MALIGNT MELANOM:	31
PROSTATAKANSER:	35
LUNGEKANSER:	39
<u>KONKLUSJON</u>	<u>44</u>
<u>REFERANSER</u>	<u>51</u>

INNLEDNING

Hva er kreft? Hvordan utvikles kreft i kroppen vår? Hvordan responderer immunsystemet på kreftceller? Hvordan lurar og etter hvert erobrer kreftceller kroppen vår? Hva kan vi gjøre for å hjelpe vårt immunsystem til å bekjempe denne ofte dødelige sykdommen? Hvilke behandlingsmuligheter vil man kunne tilby i nær fremtid?

Disse er en del spørsmål som vi har stilt oss. Vi vil i denne oppgaven prøve å svare på noen av disse spørsmålene.

Betegnelsen kreft kommer fra det greske ordet *karkinos* som betyr kreps. Cancer, derimot har sitt opphav i det latinske ordet for krabbe. Stjernebildet som vi kaller Krepsen, heter Cancer på latin. Bakgrunnen for betegnelsene er at Hippokrates, legekunstens far, allerede om lag 400 år før Kristi fødsel sammenlignet venene som strålte ut fra enkelte kreftsvulster med krabbeklør.

HENSIKT MED OPPGAVEN:

Hensikten med oppgaven er å gi en generell oversikt over immunsystemet, med særlig vekt på de mekanismer som settes i gang ved tumorutvikling. På bakgrunn av dette ønsker vi å belyse prinsippene ved kreftvaksine som en behandlingsmulighet. Som ledd i dette tar vi for oss artikler, hvor vi ser på 3 hovedtyper kreft, og immuniseringsstrategier mot disse kreftformene.

Kreftsykdommen har tatt mange liv og gitt mennesket uendelig med smerte og lidelser. I mange år har man forsket på kreft for å bli bedre kjent med den, bekjempe den og for å finne en helbredelse. Dette har vært, og fortsatt er, et tidkrevende, hardt og spennende arbeid. La oss reise tilbake i tid og se hva man trodde kreft var, hva som forårsaket den, hvordan man behandlet den og hvor vi befinner oss i dag.

Vi ønsker deg god lesing!

HISTORISK PERSPEKTIV:

3000 f. Kr. – 800 f. Kr.

Ved å blande medisin og religion, foreskrive piller og griseører, behandlet legene av oldtidens Egypt flere typer av kreft. Hieroglyfiske inskripsjoner og manuskripter på papyrus skiller mellom benigne og maligne tumorer, og forteller at overfladiske tumorer ble fjernet kirurgisk. For uteruscancer og ventrikkeltumor, ble forbindelser av brygg, griseører og andre ingredienser ordinert.

525 f. Kr. – 848 e. Kr.

Etter Egypts forfall, ble de neste kapitlene i medisinsk og vitenskapelig historie skrevet i Hellas og Roma. Der hevet de store legene *Hippocrates* og *Galen* (som dominerte medisinske tanker i 1500 år) medisin ut av trolldommens rike, overtro og religion, ved å definere sykdom som en naturlig prosess, og basere behandling på observasjon og erfaring. Kreft ble identifisert, med advarsler mot behandling av de mer alvorlige former.

På denne tiden trodde greske filosofer at fire elementer – jord, luft, vann og ild – hver av dem med egen kvalitet av kulde, tørrhet, fuktighet, og varme, regjerte universet. Fire korresponderende væsker, eller kroppsvæsker, regjerte menneskets helse – blod, slim, gul galle, og sort galle. Sykdom var et resultat av ubalanse mellom disse fire kroppsvæsker. Kreft ble forklart som et resultat av for mye sort galle, helbredelig kun i dets tidligste faser.

I denne perioden fikk man sykehus, medisinske skoler og universitet, noe som var et stort bidrag til medisin.

1517 - 1590

I enhver disiplin ble dogmer forkastet og det ble gjort fremskritt innen vitenskap og kirurgi, da leger gikk tilbake til direkte observasjon av menneskekroppen.

Fagfeltet **anatomi** var den mest signifikante medisinske oppdagelsen i det 16. århundre. Teorien om at kreft var forårsaket av for mye sort galle var fortsatt gjeldende. Kreft ble ansett som uhelbredelig, skjønt en rekke salver som inneholdt arsenikk ble brukt for behandling av dens manifestasjoner.

1609 – 1665

Fundamentet for moderne vitenskap ble lagt til grunn i det 17. århundre.

Vitenskapsmenn spurte ”hvordan” heller enn ”hvorfor”, med mikroskop og andre instrumenter til hjelp. Kroppsvæske teorien som årsak til sykdom ble forkastet, og kreft ble ikke lenger tilskrevet galle. Forskere søkte etter svar andre steder.

Mens teknikker forbedret seg, var kirurgi et risikofylt valg på grunn av mangel på anestesi og antiseptiske forhold. En berømt tysk kirurg, *Fabricius Hildanus*, fjernet forstørrede lymfeknuter i brystcancer operasjoner, gjorde amputasjoner av lårbenet og tenkte ut bruk av tourniquet for kontroll av blødning. En annen lege, *Johan Scultetus* utførte total mastektomi.

Oppdagelsen som *Gaspare Aselli* gjorde av årer i det lymfatiske system, foreslo abnormiteter av **lymfe** som det viktigste årsak til kreft.

William Harvey's fremragende bevis på vedvarende sirkulasjon av blod i et lukket system var den mest signifikante prestasjonen innen medisin og fysiologi i første halvdel av det 17. århundre.

1683 – 1687

En nederlandsk optiker, *Johannes Jansen*, og hans sønn *Zacharias* oppfant **mikroskopet** ca. 1590 og teleskopet i 1608. Jansen mikroskopet ble raskt tatt i bruk av forskere gjennom hele Europa som studerte struktur og funksjon av menneskekroppens organer, planter og bakterier.

Robert Hooke illustrerte vevsstruktur i planter, og kalte dem "små bokser av celler". Hans observasjon av "celler" førte til det 19. århundres teori om **cellen** som grunnenheten for alle levende organismer.

1733 – 1788

Med de første systematiske eksperimenter i kreft, ble **onkologi** født som en medisinsk disiplin. Miljøbestemt kreft ble rapportert, og sykehus med spesialisering innen kreft behandling ble åpnet.

Den franske legen *Claude Gendron* avviste en av teoriene fra det 17. århundre om at kreft var forårsaket av sure gjærstoff. Han konkluderte etter åtte års forskning at kreft oppstår lokalt som en hard, voksende masse, uhelbredelig med medisiner, og som må fjernes med alle dens "filamenter". Den nederlandske professoren *Herman Boerhaave* trodde at **inflammasjon** kunne resultere i en tumor, kapabel til å utvikles til kreft.

Den store kirurgen *John Hunter* tenkte dersom en tumor var bevegelig, kunne den fjernes kirurgisk. Dersom forstørrende lymfeknuter var involvert, frarådet han å operere.

1800 – 1892

Store og betydningsfulle oppdagelser innen vitenskap, medisin, industri og teknologi ble gjort i det 19. århundre. *Darwin* publiserte teorien om evolusjon; *Pasteur* oppfant **bakteriologi** og begynte med kampen mot infeksjonssykdommer.; *Virchow* fokuserte på **cellepatologi**; og **anestesi** og **antiseptis** forbedret kirurgi. Kreftforskning skjøt fart da *Röntgen* beskrev **røntgenstråler**, ekteparet Curie isolerte **radium**, og *Müller* observerte abnormiteter ved kreft celler. Kopper var på denne tiden en dødelig og utbredt sykdom. Da vaksinen ble tilgjengelig i begynnelsen av 1800-tallet, ble dødeligheten tilnærmet null der den ble brukt obligatorisk.

Forbudet mot **disseksjon** og **obduksjon** ble opphevet. Dette banet vei for pionerarbeid i **patologi**. Man fikk lærebøker i patologi som var basert på organer. Kreft i bryst, ventrikel, rektum, testikkel, urinblære, pankreas og spiserøret ble beskrevet i findetalj.

Man fikk også bedre mikroskoper, og studier av kreft celler og tumorer avslørte at kreft celler så veldig forskjellig ut fra normale celler.

I 1888 oppdaget Dr. *William B. Coley* immunogene effekter på tumorceller ved hjelp av bakterietoksiner. Dette la grunnlaget for senere immunterapi ved tumorer.

1895 – 1929

Fra 1900 og fram til andre verdenskrig, gjorde man store fremskritt i forståelsen av struktur, funksjon og kjemi i levende organismer. Medisiner mot infeksjonssykdommer ble utviklet, og røntgenstråler ble brukt for diagnostisering og behandling av sykdommer.

Kreftforskning i cellekulturer, kjemiske karsinogener, diagnostiske teknikker og kjemoterapi etablerte onkologi som en eksperimentell vitenskap.

Man forsto at røntgenstråler selektivt skadet kreft celler mer enn andre typer vev. Etter at sikre doseringer ble bestemt, ble stråling en standard form for terapi.

Postulatet om abnorme **kromosomer** som årsak til kreft ble kjent.

I tillegg til **elektronmikroskop** og andre nye verktøy, ble spesialiserte prosedyrer som vekst av celler in vitro og avling av bestemte stammer av mus standardisert innen forskning. Teorien fra 1700-tallet om at kjemikalier var årsak til kreft ble bekreftet da eksperimenter verifiserte denne teorien.

1930 – 1950

Fra århundreskiftet og fram til andre verdenskrig, var de vanligste behandlingene av kreft **kirurgi** eller **stråleterapi**. Medisiner og kjemikalier som var effektive mot andre sykdommer, var hjelpeløse mot kreft. En rekke oppdagelser i løpet av 1940-årene, viste at kreft var sårbar overfor en rekke medisiner og kjemikalier.

I etterkrigstiden begynte forskere å søke etter medisiner og kjemikalier for behandling av kreft. Som følge av dette hadde man suksess mot visse typer kreft, noe som etablerte **kjemoterapi** som den tredje våpen i antikreft arsenalet.

Uansett hvilke type kreft eller behandlingsmetode, jo tidligere den er oppdaget, desto bedre prognose vil pasienten ha. En tidlig igangsatt behandling kan forhindre **metastasering**. Derfor ble teknikker utviklet for å diagnostisere kreft på et tidligere stadium.

1952 – 1971

I etterkrigstiden ble **subatomiske** partikler oppdaget, og maskiner som bearbeidet informasjon med en forbløffende hastighet ble utviklet. De mest dramatiske fremskrittene var innen **molekylær biologi**, da man ble kjent med cellenes virke og sammensetning. I 1953 bekjentgjorde *James Watson* og *Francis Crick* sin **DNA-modell**. Ettersom kunnskap om DNAs funksjon og struktur vokste, fikk man mer kunnskap om cellen. Kreftforskere oppdaget mye av denne informasjonen om cellen. Kirurgi, strålingsterapi og kjemoterapi ble værende som hovedbehandlingsmetoder for de aller fleste former av kreft. Ettersom mikroskoper ble forbedret, ble **virus** synlig og deres struktur ble kjent. I løpet av 1960- og 1970-årene var virus onkologi et av de mest fruktbare kreftforskningsområder. Ved slutten av 1970-årene var ca. 45 kjemikalier funnet effektive mot 29 former av kreft. Etter hvert oppdaget forskere at kombinasjoner av kjemikalier var mer effektiv mot kreft enn et enkelt kjemikalie. **Leukemi** blant barn var en av de første kreftformene som kunne bli behandlet på denne måten. I 1950- og 1960- årene, ble betydningen av kjemiske **karsinogener** og karsinogenese mekanismer nok en gang gransket. Man viste at mange kjemiske karsinogener er egentlig **prekarsinogener**, som kan gi kreft kun ved metabolisme. De gir da DNA skade, noe som fører til kreft genererende feil i den genetiske koden.

I 1970 oppdaget to forskere noe som fikk stor betydning i kreftforskning. *Howard Temin* og *David Baltimore* oppdaget et enzym, **revers transkriptase**, som forklarte mekanismen bak omdannelsen av RNA virus, deres genetiske informasjon til DNA, noe som gjorde genetisk teknikk mulig.

1972 – 1981

I denne perioden skapte vitenskapelige oppdagelser helt nye teknologier som **genteknologi** og produksjon av **syntetiske antistoffer**. Kreftforskning har både vært en kilde for og en mottaker av denne utviklingen. Med innsikt i cellemekanismer og immunsystemet, har man sluttet å søke etter en "magic bullet" for behandling av kreft. Dagens behandlingsmetoder er utviklet for å operere i kjente prosesser mot kjente prosesser. Ved hjelp av genteknologi kunne man studere hvordan normale celler ble til kreftceller. **Onkogener**, de hypotetiske kreftskapende gener, kunne faktisk bli identifisert. Det ser ut som uansett årsak til kreft – genetisk, kjemisk, viral eller en kombinasjon av disse – er noen mekanismer felles.

Tidlig på 70-tallet oppdaget *Peter Duesberg* og *Hidesaburo Hanafusa* at RNA virus som forårsaket kreft hos kyllinger, inneholdt et gen (**src**) som produserte et protein nødvendig for kreft. Ved å fjerne dette genet, kunne man forhindre utvikling av kreft hos disse kyllingene. Forskerne hadde oppdaget det første onkogenet. Man har siden oppdaget mange onkogener. Kort tid senere oppdaget *Harold Varmus*, *Michael Bishop* og *Dominique Stehelin* et gen i tilsynelatende normale kylling- og humane celler, som var lik src genet, og som kunne indusere kreft. De kalte dette genet "**proto-onkogen**" og foreslo at det er presentert i normale celler til de fleste dyr.

I 1975 tok biomedisinsk vitenskap og onkologi et kjempesteg med introduksjon av **hybridomteknikk**. Med denne teknikken kunne man masseprodusere en spesiell type antistoff. Dette antistoffet ble kalt "**monoklonal antistoff**", og har siden hatt en enorm innvirkning på diagnose og behandling av kreft. I midten av 1970-årene ble det utviklet to nye metoder for å sekvensere DNA- bestemme den presise rekkefølgen av nukleotidene (AGCT)- kalt etter deres opphavsmenn: *Fredrick Sanger* (Sanger prosedyren), og *Allen Maxam* og *Walter Gilbert* (Maxam-Gilbert prosedyren). Disse prosedyrene muliggjorde studie av funksjon til spesifikke gener. Med framskritt innen genteknologi kunne man granske mekanismer som førte til at en normal celle ble til kreftcelle på gennivå, og man begynte å kartlegge det kompliserte immunsystemet i menneskekroppen. Forskere innså at selve kroppen hadde et system som kunne, og ofte ble brukt for å bekjempe kreft. Hybridomteknikk muliggjorde manipulering og fremming av immunresponser. **Rekombinant DNA** teknologi og hybridomteknikk har bidratt til nye behandlingsmetoder av kreft. Når antigener til visse typer kreft er identifisert, kan man bruke monoklonale antistoffer til å "merke" slike celler, for deretter å bli destruert av immunsystemet. Monoklonale antistoffer kan også brukes som leveringssystemer for konvensjonelle medisiner, som vil angripe kun kreftceller.

I 1980 beviste *Robert Gallo* at RNA virus kan forårsake kreft, ved å demonstrere at human T-celle leukemi er forårsaket av HTLV-1 virus. Et beslektet virus, HTLV-2, ble kort tid etter isolert fra pasienter med hårcelleleukemi, mens et tredje, HTLV-3 ble koblet til AIDS.

1982 – 1985

Framskritt innen **datateknologi** i 1980-årene omskapte diagnostisk billedtaking. Nå var det mulig å visualisere organer og bløtvev i detalj, noe som tidligere var tilgjengelig ved anatomisk disseksjon. Billedtakingsteknikker som **CT**, **PET**, **MRI** og **ultralyd** skaper vinduer inn i kroppen, som muliggjør deteksjon av tumorer og abnormiteter i områder som er utilgjengelig med en klinisk undersøkelse eller røntgen alene.

En annen teknikk **immunodiagnose**, bruker antistoffer, koblet til radioaktive isotoper, som søker etter og identifiserer kreftceller. Disse antistoffer kan anvendes til å studere vekst av kreft i laboratorium eller bli injisert i kroppen som markører for å spore kreftceller.

I 1980-årene, omdannet forskere **SCID** mus (en mus som mangler et funksjonelt immunsystem, en tilstand kalt severe immunodeficiency disease) ved å overføre humane immunceller og vev. På denne måten skapte de en **in vivo** modell av det humane immunsystem. Forskere screener hvert år flere tusen medisiner, naturlige og syntetiske, for antikreft egenskaper. Flere planter har gitt oss mange lovende og kraftige antikreft substanser. Forskere bruker også **datamodell** systemer for å konstruere molekyler som kan ha ønsket farmakologisk effekt på bestemte målområder på en celle. Ved bruk av medisiner, sammen med kirurgi og strålingsterapi rettet mot kreftceller, sikrer man at vandrende kreftceller som metastaserer til blodbanen også kommer under angrep. Imidlertid vil mange typer kreft bli resistente mot multiple antikreft medikamenter. I 1983 oppdaget *Victor Ving* og hans medarbeidere et protein, **P-glykoprotein**, som finnes i cellemembranen og som pumper antikreft medikamenter ut av kreftceller sammen med andre toksiske substanser. Identifisering av det humane gen som koder for denne pumpen, har tillatt forskere å vurdere muligheter for å omgå pumpen og forbedre medisinsk behandling.

1986 – 1992

Teknikker innen genteknologi, molekylær biologi og molekylær genetikk ble bedre og mer sofistikert. Forskere tok store steg mot etablering av koblinger mellom kromosomer, gener som de bærer, og kreft. Vanligvis vil kreft forekomme når en rekke skadede gener akkumulerer i en celle som til slutt blir til en kreftcelle. I 1986 oppdaget man det første humane **tumorsuppressorgenet**. Mens onkogener fremmer cellevekst, forhindrer tumor suppressor gener celleveksten. Kreft kan utvikles når de naturlige suppressorene er skadet eller gått tapt. Med oppdagelsen av nerve vekstfaktor og epidermal vekstfaktor, noe som ga Stanley Cohen og Rita Levi-Montalcini Nobel pris i medisin i 1986, avslørte man vekstfaktorers rolle i utvikling av kreft. Flere av disse hormon-lignende faktorene, som øker celleveksten, og reseptorene som bringer dem inn i cellen, blir utnyttet i kreftbehandling og diagnostikk. Vanlige kreftformer er et resultat av en akkumulasjon av forandringer som involverer både tumorsuppressorgener og onkogener. I koloncancer kan endringer i en eller flere gener føre til benigne polypper i tykktarmen. Kommer det flere endringer i tillegg, kan polyppene bli til kreft. Enda flere endringer fører til metastase av kreftcellene. I midten av 1990-årene ble en ny kategori av gener identifisert. ”Proofreader” (korrekturleser) gener vil vanligvis reparere defekt DNA. Dersom disse muterer, vil ødeleggelse bryte ut, ofte i form av kreft. Proto-onkogener er normale gener som kan forandres til onkogener. Proto-onkogenet **bcl-2** (oppdaget i B-celle lymfom) forhindrer **apoptose** (naturlig celle død). Dette genet er blant annet ment å forlenge livet til ”hukommelsesceller” i immunsystemet. Når upassende aktivert, tillater bcl-2, en mengde hvite blodceller til å akkumulere og til slutt mutere til kreftceller, kjent som lymfomer og leukemi. Bevis på at spesifikke miljø karsinogener skader DNA, kom til syne i 1991. Stråling fra solen produserer en karakteristisk forandring i tumor suppressor gener (p53) i hudceller, mens en annen mutasjon i leverkreft kan forårsakes på grunn av eksponering av enten alfatoksin, en soppegift, eller hepatitt B. Forskere lærte å bruke

onkogener som prognose indikator, risiko markører, eller primære mål for terapi. I en rekke kliniske studier fikk pasienter med brystkreft, ovariekreft eller lungekreft antistoffer eller medikamenter som skulle oppheve onkogener eller deres produkter.

The Cancer Genome Anatomy Project er en database prosjekt som samler den første fulle indeksen over alle gener involvert i kreft. **The Human Gene Project**, som startet i begynnelsen av 1980-årene, viser nøyaktig lokalisasjon og funksjon til hver enkelt gen i menneskekroppen. Etter hvert som man fikk mer kunnskap om det humane genom, begynte forskere å fokusere på muligheter for **genterapi**, erstatte defekte eller manglende gener med normale gener. I 1989 utførte forskere den første godkjente gen overføringen. De førte inn fremmede gener for å spore opp tumor-drepende celler i kreftpasienter.

Dette kliniske forsøket viste at gen terapi er trygg og sikker. Siden har det kommet tilbakeslag.

Det første forsøk på genterapi kom i 1990, og involverte barn med en arvelig, livstruende immunsykdom. Barna fikk et harmløst virus, som førte inn kopier av et normalt gen inn i deres T-celler. Det normale genet erstattet et abnormt gen som forhindret produksjon av et avgjørende enzym. Dette eksperimentet var vellykket, og gjenopprettet immunforsvaret hos disse barna. Innen måneder begynte man med gen terapi forsøk hos kreftpasienter. Støttet av vekstfremmende onkogener, frigjort fra hemmende suppressorgener, tar kreftceller mange trinn i deres søk etter etablering av tumor. De går gjennom mekanismene metastase, invasjon og angiogenese. I 1992 begynte forskere å teste metoder for å forpurre metastase av kreftceller, ved å bruke forbindelser som blokkerte nødvendige enzymer i kreftcellene, og andre som arresterte veksten av nye tumorer. Forskere har også utnyttet vårt immunsystem i kampen mot kreft. Ved å koble monoklonale antistoffer og letale toksiner, fra planter eller bakterier, har forskere realisert drømmen om en "magic bullet": det skreddersydde antistoffet avleverer sitt dødelige last direkte til målcellen.

Fotodynamisk terapi anvender fotosensible agens som injiseres i kroppen for å gjøre cellene ultrasensitive overfor lys. Agens passerer raskt gjennom normale celler, men blir værende i kreftceller. Et utvalgt sted på kroppen blir så eksponert for laserlys. Mens kreftcellene blir ødelagt, tar normale celler liten skade av lyset.

1993 –

Strategier siktet på å hindre forekomst, progresjon eller tilbakevending av kreft er uvurderlige våpen. Epidemiologiske undersøkelser viser at en tredjedel av kreftdødsfall har sammenheng med diett, og studie etter studie har bevist at regelmessig mosjon gir beskyttelse mot en rekke typer kreft. Mange studier viser også at screening for kreft før en får symptomer, øker sjansen for en vellykket behandling. I tillegg til å etterstrebe sunnere livsstil, er det viktig med forebyggelse, ved å redusere eksponering for farlige karsinogener som forekommer i dagligmiljøet.

Ideen om å "immunisere" folk mot kreft ved å injisere substanser som vekker kroppens antikreft forsvar, har vakt forskernes interesse for over et århundre.

GENERELL DEL

PERSPEKTIV:

Immunsystemets fundament er dets evne til å skille mellom kroppens egne antigene strukturer ("**selv**"), og det vi kan kalle for fremmede strukturer ("**ikke selv**"). Dette har sørget for at kroppen skal kunne gjenkjenne og fjerne fremmede strukturer, celler og organismer. For å utføre denne rollen, har immunsystemet utviklet et kunstferdig, og interaktivt system som er kontrollert og balansert.

Dersom en struktur blir gjenkjent av immunsystemet som fremmed, kalles den for et **antigen**. Når immunsystemet så reagerer mot det, kalles strukturen eller antigenet, for **immunogen**. Denne egenskapen har ført til omfattende forskning, hvor forskere har undersøkt om immunsystemet kan bli brukt til terapi. Kreft er klart en sykdom hvor immunterapi er aktuelt. Teorien om **immunovervåking** antar at tumorceller er antigene av natur og at immunsystemet kan anvendes til å eliminere slike celler før de vokser og sprer seg. Progressiv tumor vekst kan således tilskrives et ineffektivt immunsystem. I flere tilnæringsmåter til tumorimmunterapi, har man prøvd å få tumorcellene til å komme til syne som mer fremmede, sammenlignet med normale celler. Man har også forsøkt å amplifisere vertens immunreaksjoner overfor den voksende tumoren.

For å få et overblikk over den potensielle rollen til immunsystemet i affeksjon av tumorutvikling og progresjon, gjennomgås kort den generelle immunfysiologi.

GENERELL IMMUNFYSIOLOGI:

Vanligvis forbinder man immunsystemet med infeksjoner av virus, bakterier, sopp, og protozoer. Her bekjemper immunsystemet disse agens for at vertens **homeostase** ikke skal ødelegges.

Videre har immunsystemet funksjoner i inflammatoriske tilstander ved autoimmune reaksjoner og allergiske reaksjoner.

Dessuten ser det ut til at immunsystemet kan virke hemmende på maligne tilstander hvor det foregår overekspressjon av visse proteiner, eller hvor nye proteiner er dannet og som virker stimulerende på immunsystemets celler.

Immunsystemet deles i:

1. Medfødt immunsystem:

I medfødt immunrespons finner vi barrierer som slimhud og hud.

Videre spesielle sekreter som **lysozym** (tårevæske) og **laktoferrin** (brystmelk). Det finnes spesielle molekyler i serum tilhørende komplementsystemet som binder seg til for eksempel bakterienes cellevegg og som deretter lyseres.

Videre finnes såkalte **fagocytter** som "spiser" bakterier. Disse cellene er **monocytt** (i blodbane, vev, og tiltrekkes av kjemokiner), **makrofager** (finnes i vev og utvikles fra monocytt), **nøytrofile granulocytter** (blodbane, vev og tiltrekkes av kjemokiner). I

tillegg finnes NK-celler (store granulære lymfocytter/LGL), de utgjør 10 % av lymfocytter av perifert blod.

2. Ervervet immunsystem:

B-lymfocytter; utvikles i benmargen fra lymfocytt-progenitorceller hvor utvikling av membrambundet antistoff (immunglobulinmonomer bestående av H-kjede og L-kjede med Fab-fragmenter og Fc-fragmenter), er uavhengig av antigenpresentasjon men er genetisk styrt.

B-cellene slår seg ned i perifere lymfoide organer. B-cellene står for den **humorale ervervede respons** (antistoffproduksjon/immunglobuliner og finnes i serum og ekstracellulærvæske). Antistoffene bindes til antigener på virus og bakterier. Dette aktiverer det medfødte immunforsvaret, dvs makrofager, granulocytter og komplement.

T-lymfocytter; utvikles fra lymfocytt-progenitorceller fra benmargen og vandrer til thymus hvor de utvikler **TCR**¹ (antigenavhengig utvikling) og **CD8⁺/CD4⁺ spesifisitet**. De står for den celledierte - ervervede respons (TCR er en heterodimer α -, β -kjeder og gjenkjenner biter av antigen/peptidfragmenter som ligger i gropen av MHC²-molekyler i membranen på andre celler). T-cellen virker derfor bare ved nærkontakt med andre celler og er **alloreaktiv** på fremmede MHC- molekyler. Allogene T-celler eliminerer kreftceller men kan også angripe normalt vev (GVH-reaksjon³). T-celler har autotoleranse som utvikles ved **negativ seleksjon**.

Naive T-celler trenger kostimulering med B7 (CD80,CD86), før de kan bli **effektorceller**. De fleste nonlymfoide vev mangler MHC-II og kan ikke stimulere CD4⁺-T-celler, som derved vil være i en tilstand av **immunologisk uvitenhet**.

Aktivering av naive T-celler er avhengig av at antigenet fraktes til lymfeknuter og presenteres av **APC**⁴ med B7. **MHC** molekyler finnes på de fleste celler i kroppen og er transmembrane glykoproteiner og de er membranstabile. MHC hos mennesket kalles **HLA**⁵ og finnes i to klasser:

MHC-I består av et transmembranglykoprotein og β 2-mikroglobulin. HLA-I finnes i kromosom 6, på tre loci A, B, C, hvert locus har mange alleler. MHC-I presenterer peptidfragmenter laget av MHC-presenterende celler i cytosol ved nedbryting av proteiner i proteosomer⁶. **TAP protein** og TAP2-protein danner en kanal for peptidet inn i ER. RNA-virus tatt opp av endosomer syntetiserer virusproteiner som brytes ned av proteosomet, virusproteosomet presenteres TAP på vanlig måte. Dette kan brukes ved å

¹ T-cellereseptor

² Major Histocompatibility Complex, kalt "Det viktigste vevsforlikelighetskompleks" på norsk.

³ Graft versus-host (GVH) reaction. Ved bruk av allogene T-celler kan man kontrollere deres GVH-reaksjon vha. retrovirus kodet for thymidin kinase ved å gi ganciclovir. Da dør de allogene T-cellene.

⁴ Antigenpresenterende celler.

⁵ Human leukocyte antigen, kalt "vevsforlikelighetsantigener" på norsk.

⁶ **TAP protein** og TAP2-protein danner en kanal for peptidet inn i ER. RNA virus tatt opp av endosomer syntetiserer virusproteiner som brytes ned av proteosomet, virusproteosomet presenteres TAP på vanlig måte. Dette kan brukes ved å danne vektorer som taes opp i dendritiske celler og som deretter presenterer tumorantigener. For øvrig finnes det virus som hemmer for eksempel TAP8HSV eller mekanismer som hemmer vandring av MHC-I fra ER til MHC-grop. Både adenovirus og tumorceller nedsetter antall MHC uttrykt på cellen. NK-celler dreper celler med lite MHC-I.

danne vektorer som taes opp i dendrittiske celler og som deretter presenterer tumorantigener. For øvrig finnes det virus som hemmer for eksempel TAP8HSV eller mekanismer som hemmer vandring av MHC-I fra ER til MHC-grop. Både adenovirus og tumorceller nedsetter antall MHC uttrykt på cellen. NK-celler dreper celler med lite MHC-I.

Chaperonene **calnexin** og **calreticulin** følger MHC-molekylet inntil det foldes og peptidet er bundet i gropen.

T-celler med **koreseptor** CD8⁺ gjenkjenner MHC-I, og utskiller IFN- γ ⁷. Dermed øker presentasjon av viraltpeptid ved hjelp av økt proteaseaktivitet, økt aktivitet av TAP og økt transkripsjon av MHC. IFN- γ kunne dermed også tenkes å brukes som en oppgradering av tumorantigener presentert på dendrittiske celler. T-celler med koreseptor CD4⁺ aktiveres av et visst antall (15) antigen-MHC-II-komplekser. Derved utskilles **lymfokiner** som virker regulerende på APC.

MHC-II består av et transmembran glykoprotein. HLA-II betegnes HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR og uttrykkes med stor grad av polymorfisme. MHC-II finnes på dendrittiske celler, B-celler, makrofager og kan induseres på somatiske celler ved betennelsestilstander (IFN- γ). De fleste peptider som er bundet til HLA-klasse II molekyler i APC kommer fra proteiner tatt opp via endosytose. Disse proteiner kommer inn i cellen enten konstitutivt eller reseptormediert.

Endosomer fusjonerer med vesikler avsnørt fra Golgiapparatet som inneholder MHC-II med bundet invariant-del og benevnes deretter som **CIIV**. I CIIV er pH lavere og proteolytiske enzymer aktiveres. Dermed proteolyses invariant kjede og MHC-grop blir tilgjengelig for peptid.

Den ervervede respons er **spesifikk** (responsen er knyttet til et bestemt virus eller ett spesielt antigen på en APC). Videre har den **hukommelse** (dvs. immunsystemet husker hvilke agens det tidligere har reagert på) og **toleranse** (immunsystemet har selektert bort celler slik at T/B-celler ikke angriper kroppsegne antigener).

Det ervervede immunsystemet forsterker ofte reaksjoner i det medfødte immunsystemet. For eksempel vil binding av antistoffer til en mikroorganisme føre til komplementaktivering. Dette vil igjen aktivere fagocytene. Det medfødte immunsystemet er vevet inn i det ervervede immunsystemet og systemet stimuleres ofte i sekvens. Således kan makrofager som produserer IL-12 øke andel av Th1 cytotoksiske celler.

Antigener:

Den delen av antigenet som er i kontakt med en reseptor kalles **antigen determinant/epitop**.

Haptener er små molekyler som kan kobles til et bæremolekyl og induserer **antihapten immunrespons**.

⁷ Interferon gamma.

Immunologisk synapse:

1. TCR/CD3 ($\epsilon, \delta, \gamma, \epsilon$)-komplekset har lav affinitet for peptid-MHC-komplekset men induserer **Signal 1** som setter i gang gentranskripsjon og translasjon. Derved lages IL-2 som er vekstfaktor for T-celler og IL-2 reseptor for T-cellene. Det vil si CD4⁺-T-celler som reagerer på peptid i MHC stimulerer sin egen vekst ved hjelp av autokrin sløyfe, og **parakrint** ved at CD8⁺-T-celler som ikke kan produsere IL-2 stimuleres av CD4⁺-cellers IL-2 produksjon.
2. Adhesjonsmolekyler: T-celler (CD2, LFA1) og APC (CD58, ICAM-1).
3. Kostimulatoriske molekyler: T-celler uttrykker CD28 og APC uttrykker B7-1 (CD80), B7-2 (CD86). Disse induserer **Signal 2**. Hvis naive T-celler mottar både Signal 1 og Signal 2 aktiveres de til **hukommelsesceller** og **effektorceller**. Mens T-celler som bare mottar signal 1 og ikke signal 2 blir **anerge**. Dette kan være aktuelt for T-celler som reagerer på tumorcellers antigen-MHC-kompleks. Siden tumorceller mangler B7-kostimulatoriske molekyler får T-cellene ikke signal 2 og derved oppnås en celletoleranse for tumorceller.

OBS! Bare kostimulering kan aktivere "naive T-celler" og kostimulatoriske molekyler er bare tilgjengelige på APC. Fysiologisk, in vivo skjer dette ved at dendritiske celler stimulerer naive T-celler spesifikke for det presenterte antigen i paracortex i lymfeknuter. T-cellene utvikles til blaster og får klon ekspansjon. Den mangfoldiggjorte T-celle mangler fortsatt effektorfunksjon. Denne utvikles etter ca 8 dager og naive T-celler har blitt effektor-T-celler eller hukommelsesceller. Disse er mer sensitive, trenger mindre kostimulerende molekyler, har lavere stimulerings tid og kan ekstravasere.

Tumorceller mangler MHC-II og kostimulatoriske molekyler, og dermed stimuleres ikke naive CD4⁺ og CD8⁺-T-celler. Derimot stimulerer kreftceller CD8⁺ hukommelsesceller.

4. Koreseptorer:
CD4 bindes til MHC-II ($\beta 2$ -domenet). CD4⁺-T-cellene får en intracellulær signaltransduksjon og danner først IL-2⁸.

CD8 bindes til MHC-I på $\alpha 3$ -domenet og fører til signaltransduksjon og dannelsen av cytotoxiske celler. Disse har også parakrine funksjoner for B-celler.

⁸ Etter en uke med bakterieinfeksjon som aktiverer dendritiske celler og makrofager til å danne IL-12, dannes det **Th1** (cytotoxiske celler har Fas ligand og induserer apoptose i målcelle og produserer INF, IFN- γ som aktiverer makrofager til intracellulære drap og hemmer Th2 vekst). CD4⁺ koreseptorer finnes også på monocytter og makrofager. Dersom naive T-celler i stedet påvirkes av IL-4 (hemmer også dannelsen av IL-12) produsert av mastceller og Th2 celler dannes **Th2** (hjelper B-celler til å danne isotypskifte til IgE og kimsenter reaksjon og plasmaceller).

I tillegg finnes **negativt kostimulatorisk signal** som begrenser lymfokinproduksjonen, dvs. inhiberer Signal 1 og utkonkurrerer Signal 2 ved hjelp av CTLA-4 som ligner CD28 på T- cellene og binder B7-1 / B7-2.

Den fysiologiske prosessen ved **antigenpresentasjon** er at antigenet må fraktes til perifere lymfoide organer ved hjelp av dendritiske celler⁹. Dendritiske celler presenterer **peptidfragmenter** bundet til MHC på cellenes membran og befinner seg i lymfekjertler som **interdigiterende dendritiske celler**. T-celler som ikke reagerer på antigen forlater lymfekjertelen og via blodsirkulasjonen kommer de til en ny lymfekjertel. T-celler som reagerer med epitop aktiveres, ekspanderes og får effektorfunksjon etter 8 dager. Naive T-celler har kjemokinreseptorer for *hemostatisk* kjemokiner uttrykt på HEV. Derimot kan hukommelses T-celler gjenkjenne inflammasjonskjemokiner og ekstravasere ut i vevet. Disse er heller ikke avhengig av APC for å aktiveres. Denne mekanismen for antigenpresentasjon har selvfølgelig implikasjoner for hvordan immunreaksjoner skal oppstå overfor tumorceller:

- Hvordan T-cellene skal presenteres for tumorcellenes antigener.
- Naive T-celler er avhengig av å få presentert antigen fra APC for å aktiveres.
- CD8⁺ effektor-T-celler er avhengig av å få presentert peptid fragmenter fra MHC-I, men de må stimuleres av parakrine funksjoner ved CD4⁺ celler. Men sistnevnte kan ikke stimuleres av cancerceller pga. manglende MHC-II og kostimulatoriske molekyler (for eksempel B7 som finnes på APC).

Vi ser at den fysiologiske presentasjon av antigener sannsynligvis ikke innebærer at APC presenterer tumorantigener for immunsystemet slik beskrevet ovenfor. Derfor er en av teknikkene bak kreftvaksine "å laste opp" dendritiske celler med tumorantigener. Videre må man bryte den immunologiske toleransen lymfocytene viser overfor kreftcellene. Dette kan gjøres ved å forandre kreftcellene in vitro slik at de får kostimulatoriske molekyler og lymfokiner. Slik vil de manipulerede kreftcellene aktivere T-celler til å angripe nonimmunogene svulstceller.

Humorale immunresponser:

Nativt antigen fraktes med afferent lymfe og bindes til B-celler med reseptor som passer. B-celler som binder et toksoid eller antigen til BCR¹⁰ får signal via IgA og IgB som aktiverer intracellulære kinaser. Membranbundet antistoff tar med seg toksoid/antigen inn i cellen ved reseptormediert endocytose og nedbrytes av proteaser og fraktes med vesikler (CIIV). MHC-II som er blokkert med invariant kjede fjernes og peptid plasseres i grop. CD4⁺-T-celler festes til B-cellene og utskiller lymfokiner (IL-4,IL-5,IL-6). Disse får B-cellene til å oppregulere MHC-II på overflaten. **Primærresponsen** hos B-cellene er IgM produksjon av kortlivede plasmaceller og hukommelsesceller som returnerer til blodba-

⁹ Dendritiske celler som for eksempel lungehanske celler, slørceller, og makrofager vandrer fra benmarg til blodbane for å innta vev og blodbaner, hvor de tar opp antigen ved makropinocytose eller reseptormediert fagocytose.

¹⁰ BCR: B-cellerreseptor

nen. **Sekundærresponsen** foregår ved at antigenspesifikke T-celler møter B-celler i cortex og kimsenterreaksjonen starter dvs produksjon av langtlevende plasmaceller, affinitetsmodning, somatisk hypermutasjon og isotypskifte. B-celler (finnes i cortex i lymfeknuter som primærfollikler eller sekundærfollikler) trenger hjelp fra T-celler (finnes i paracortex) som har vært stimulert av dendrittske celler.

B-celler kan da differensiere til **plasmaceller** og lage antistoffer. Vi ser i paracortex et nært samarbeid mellom T-celler, interdigiterende dendrittske celler og B-celler

- Antistoffene sirkulerer fritt i blodet
- Aktiverer komplement
- Opsoniserer

Ved denne humoral immunresonsen kunne man tenke seg kreftspesifikke antistoffer som binder seg til kreftceller og igangsetter Fc-fragment- og komplementmedierte effektorfunksjoner. Antistoffer kan også fremstilles ved rekombinant teknologi og kobles til toksiner eller radioaktive isotoper. En slik teknikk vil avhenge av affinitet og aviditet.

B-celle lymfomer kan behandles med anti-CD20 antistoffer (Retuximab).

KREFTUTVIKLING:

Kreftformene med hyppigst dødelighet er lungekreft, brystkreft, prostatakreft og tykktarmskreft.

Selv om kreft er en sykdom hos voksne, skyldes 10 % av dødsfall under 15 år kreft. Før man ser på den konkrete utviklingen av svulster og økt proliferasjon av celler må vi klargjøre en del begreper og fysiologiske prosesser.

Vi må se nærmere på begrepene cellesyklus, hyperplasi, differensiering osv. **Neoplasi** er nyvekst av celler med tap av respons for normal vekstkontroll (neoplasme = tumor). Maligne tumores invaderer og ødelegger omliggende vev. Neoplastiske celler med parenkym fra epitelvev (ektoderm, endoderm, mesoderm) kalles **carcinomer**.

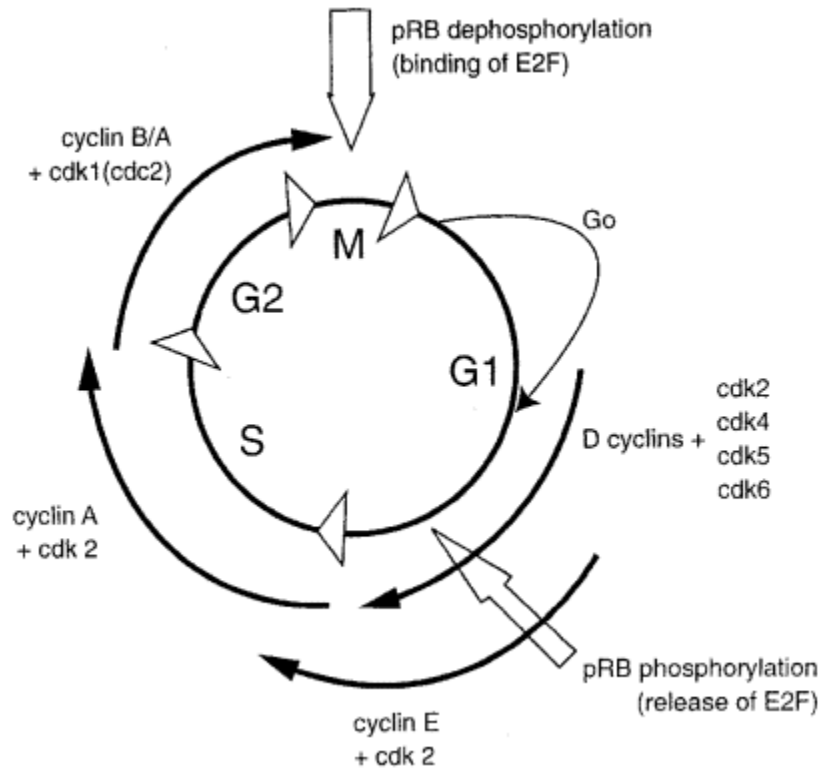
Neoplastiske celler fra mesenchymalt opphav (mesoderm-muskler osv.) kalles **sarkomer**

De fleste neoplasmer er monoklonale. **Teratomer** er fra flere germinale lag.

Hamartomer er modent uorganisert vev, **choristom/heterotopi** er normalt organisert vev i et fremmed vev.

En celle har ca. 30000 gener og rent genetisk har den materiale til å kode for langt flere proteiner og differensiere i langt flere retninger enn det den enkelte celle gjør. Kroppen vår består av forskjellige vevstyper som er bestemt av vevspesifikke celletyper og deres innbyrdes struktur og arkitektur. Transkripsjonsfaktorer aktiverer DNA og den påfølgende dannelsen av spesifikke peptider og proteiner. Disse transkripsjonskompleksene kan aktiveres gjennom en rekke kaskadeprosesser for eksempel induisert av vekstfaktorer. Cellene virker å ha et visst cyklisk liv, hvor de går inn i en syntesefase av DNA kalt **S-FASE**, de fortsetter deretter inn i en fase som bygger opp enzymer for mitosen, **G2-FASE**, denne blir etterfulgt av mitosen med pro-, meta-, ana-, telofasen og cytokinesen, **M-FASE**, denne avløses av enten en fase hvor cellen sørger for DNA-replikasjon og histon-dublering, **G1-FASE**, eller en fase hvor cellen tilsynelatende hviler, **G0-FASE**.

Disse fasene har en påfallende rytmisk karakter og styres av såkalte **Cykliner (A-F)** som fosforylerer cyklinavhengige-kinase (**CDK**). CDK fosforylerer deretter målproteiner i cellen for eksempel **pRB1**.



Figur 1 Cellesyklus og assosierte cylindere og cyclin-avhengige kinaser (CDK).

W.B. Saunders Company items and derived items copyright © 2001 by W.B Saunders Company.

Når en celle går inn i den enkelte fasen er det en komplisert prosess styrt av **cyklin-nivåene** som varierer gjennom cellesyklus, intranukleære prosesser av replikasjon og transkripsjon og diverse vekstfaktorer og transkripsjonsfaktorer. Denne **cellesyklusen** gjør at en stamcelle kan dele seg i to datterceller som også er stamceller.

Videre kan stamceller gå inn i en ny prosess som ikke er ren kopiering, nemlig **celledifferensiering**. Dette skjer ved at cellen **determineres** hvor irreversible genetiske forandringer fører til en spesialisering av den opphavelige stamcellen. Den videre **modningen** fører til at cellen samler de enzymer og proteiner den trenger for å utføre sine spesialiserte oppgaver. Selve differensieringen er avhengig av vekstfaktorer som både virker parakrint og autokrint, cytokiner, hormoner, humorale faktorer og andre reguleringsmekanismer som muligens er ukjente.

Ved kreftutvikling er problemet hovedsakelig en **hyperplasi** (vevet vokser pga. økt antall celler). Cellene gjennomgår av og til en metaplasti hvor cellene får en forandret differen-

siering (sylinderepitel blir til plateepitel). Ved kreft får man et vev som er uhensiktsmessig og med en ukoordinert autonom vekst hvor man får en tumordannelse som ikke respekterer vevsgrenser og basalmembraner. Ved nedsatt differensiering får man en rask vekst.

Man kan ha mer enkle **dysplasier** med forstyrret proliferasjoner og hvor man har **pleomorfi** og **hyperkromasi**, men hvor man fortsatt kan gjenkjenne arkitekturen i de histologiske snitt av vevet. Ved **anaplasier** er det mangelfull differensiering av cellene i vevet med kjernepleomorfi og hyperkromatiske kjerner. Ved **carcinoma in situ** har man dysplastiske forandringer i hele tykkelsen av epitelet. Det er en preinvasiv tilstand. Jo mer differensierte neoplastiske celler er, jo mer beholder de sin normale struktur og egenskaper. Cellene i en neoplasme mangler vanlige kontrollmekanismer, mangler evne til kontaktinhibisjon, har redusert behov for vekstfaktorer, har substratuavhengig vekst og mangler evne til differensiering. Derved går cellene oftere inn i cellyklus S-fase fordi kontrollsystemene ikke fungerer (p53, pRb) men cellyklus er ikke kortere.

Kreftutvikling er derfor naturlig å betrakte som en patologisk tilstand av:

- Cellyklusregulering.
- Determinering.
- Modning.
- DNA-reparasjon (av punktmutasjoner, genamplikasjoner, delesjoner, insersjoner, translokasjoner).
- Signaloverføring.
- Telomeraseaktivitet.
- Differensiering.
- Celle-celleinteraksjoner (spesielt med henblikk på metastasering, adhesjon og motilitet).
- Angiogenese (tumorer over 1mm³ krever separat blodforsyning, angiostimulerende faktorer er VEGF, Angigenin og Bfgf).
- Cellemotilitet.

Det er viktig å være oppmerksom på de prekankrøse sykdommer hvor man har en persisterende regenerativ cellyplikasjon; for eksempel plateepitelcancer ved kroniske fistler, hepatocellulært carcinom ved cirrhose i lever, endometriecancer ved atypiske hyperplasier for eksempel ved østrogen påvirkning, bronkogen cancer ved dysplastisk mukosa i bronkiene som følge av røyking og colorectal cancer ved kronisk ulcerativ kolitt. Et spørsmål som må stå åpent er, *er benigne tumores prekankrøse?*

Et annet fenomen som kan ha betydning for kreftutvikling er forskjellene mellom celler i de enkelte vev. Dette påvirker blant annet celledelingen.

- **Labilt vev** har kontinuerlig cellyproliferasjon og celletap (dekkeepitel, bindevev, hematopoietisk vev).
- **Stabilt vev** har liten cellyproliferasjon eller celletap (gjelder f.eks. lever og nyrer) men induseres ved behov.

- **Permanent vev** har ingen celleproliferasjon (hjertemusklatur, nevroner). Videre har man stamceller som både er **unipotente** eller **pluripotente**. Dette må danne et grunnlag for den første forståelse av kreftutvikling.

Ved en svulstdannelse må man betrakte årsaker til hyperplasi forbundet med delingshastighet, selvfornyelseshastighet, sannsynlighet for determinering, apoptoseevne.

Ved **apoptose** kondenseres kjernen og endonukleaser kutter opp DNA. Dessuten kondenseres cytoplasma, celleskjelettet forandres og cellen fagocyteres eller fragmenteres for så å fagocyteres. Ved **nekrose** ødelegges cellemembranen og cellen lyseres. Det er vist at cellesyklusshastighet ikke nødvendigvis er økt men at cellen går sjeldnere inn i G0- fase og at den går hyppigere inn i S-fase, dessuten er apoptose sannsynligheten endret i mange krefttumores. Dersom den første mutasjonen i en celle gir økt proliferasjon og gir opphav til 10^{10} nye celler og mutasjonsfrekvensen er 10^{-10} , er det stor sannsynlighet for nye mutasjoner. Derved kan mutasjoner akkumuleres.

Passordmekanismer for å igangsette fosforylering av CDK og økt produksjon av de enkelte cykliner, eller fosforylering av bindingmolekyler for transkripsjonsfaktorer, som deretter kan tilkobles promoterrioner på DNA, kan påvirkes av for eksempel gammastråling, kjemiske substanser, virus eller idiopatisk spontane mutasjoner. I denne sammenhengen skal vi betrakte **den maligne tilstanden** av tumordannelse. Dvs. der hvor tumorcellene infiltrerer bindevev, basalmembraner og sprer seg til andre vevstyper og organer via lymfe, blodårer eller utsåing i hulrom. Kreften er således en tumordannelse som ”krabber” inn i friskt vev!

Regulatoriske gener og genprodukter av cellenes liv og død;

1. De genene som er regulatoriske gener av cellesyklus og/eller av differensiering kalles **protoonkogener**. Et protoonkogen kalles *myc* og induserer proliferasjon ved binding til DNA og aktiverer transkripsjon av vekstrelaterte gener for ekspresjon av *Cyklin D1*, derved induseres også apoptose. *ras* er et annet protoonkogen som setter i gang en intracellulært kaskade og virker på cellemorfologi. *bcl-2* er et tredje protoonkogen som virker apoptoptosekontrollerende ved å hemme Bax som danner porer for cytochrom-c i mitokondrier.

Ved neuroblastom finner man en **genamplikasjon** av N-myc-DNA-sekvenser. Disse protoonkogenene finnes i alle normale celler. Disse genene koder for vekstfaktorer eller proteiner som er ledd i signalkjeden fra induksjon av kaskaden til replikasjon igangsettes, og virker hemmende på apoptose. Ved mutasjoner (punktmutasjoner, delesjon, genamplikasjoner, translokasjoner) eller akkumulering eller økt induksjon av slike protoonkogener får man **onkogener**.

- **Nukleære onkogener**, for eksempel *myc*, gjør cellen udødelig. En overekspresjon av genet er vanlig ved **Burkitts lymfom** hvor man har en kromosomal translokasjon hvor *c-myc* er plassert i et område med stor transkripsjonsaktivitet. Andre onkogener med translokasjoner er *bcl-2* ved **B-celle kreft** og *c-ab* ved **myeloid Leukemi**.

- **Cytoplasmatisk onkogen** som for eksempel *ras* fører til substratuavhengig vekst. **Signaltransduksjonprotein** er protoonkogener som mottar signaler fra aktiverte vekstfaktorreseptorer. Både *ras* (GTP-bindende protein), og *abl* (tyrosinkinase) er slike cytoplasmiske signaltransduserende protoonkogener. Punktmutasjoner er typiske ved dannelse av onkogener som *ras*.

Disse onkogenene fungerer autonomt og er dominante. Onkogenene koder for **onkoproteiner**.

Når celledelingen i en celleklon øker, øker også sannsynligheten for flere mutasjoner. Det er en slik akkumulering av mutasjoner i en celleklon som fremmer muligheten for utvikling av kreft (det er nevnt at 5-10 genforandringer må til for at en solid kreftsvulst skal oppstå). For eksempel ved en overekspresjon av *myc* dereguleres cellesyklus, men dette reguleres ved økt apoptose. Ved et tillegg av overekspresjon av *bcl-2*¹¹ hemmes apoptosen og man får en tumorutvikling og kreft!

2. Videre har man såkalte **Tumorsupressorgener** (*p53* proliferasjon og apoptose, RB1 proliferasjon og apoptose, P16), som virker hemmende på celledeling og som kan indusere apoptose hos cellene. Ved kreftutvikling som følge av tumorsupressorgeners dysfunksjon må begge genene muteres for at genet skal miste sin funksjon. Tumorsupressorgenet *p53* induserer transkripsjon av *p21* som sørger for at cellesyklus stopper ved for eksempel mutasjoner og derved kan GADD45 reparere DNA-skaden. Dersom dette ikke lykkes kan BAX indusere apoptose av cellen. Men dersom *p53* ikke fungerer vil ikke denne kaskaden oppstå, det vil ikke finne sted noen DNA-reparasjon og apoptose vil ikke induseres. Derved vil DNA-skaden fortsette og det kan bli en akkumulering av mutasjoner med kreft som følge. Ved en utvikling av retinoblastom er begge allelene av det normale Rb-genet mutert. Ved mutasjoner i BRCA-1 som utskilles fra brystepitel og hemmer cellevekst øker risikoen for bryst/ovariekreft. RB1 binder seg til transkripsjonsfaktoren E2F som derved ikke kan frigjøres for transkripsjon uten at RB1 fosforyleres av CDK. Ved naturlig regulering hemmes denne fosforyleringen ved CKI som derved hemmer proliferasjon. *P53* (virker i kjernen på transkripsjonen) induserer en slik CKI (P21 som hemmer Cyklin-CDKkomplekset). Dessuten induserer *p53* Bax som aksellerer apoptose. HPV, Hepatitt-B og Epstein-Barr-virus kan hemme en normal funksjon av *p53*.

Ved kjemoterapi og strålebehandling induserer man celledød på tumorvevet for at disse apoptoseprosessene i cellen skal settes i gang, dersom disse ikke er intakte er det liten hensikt med disse to terapiene.

3. Andre gener som er viktig i en "sunn" cellecyklus er **DNA-reparasjonsgener**. Disse genene oppdager og reparerer mutasjonene i cellekjernene. Defekte DNA-reparasjonsgener fører til akkumulering av

¹¹ *bcl-2* er et protoonkogen som beskytter mot apoptose ved å hindre Bax i å danne porer i mitokondrier slik at cytochrom-c lekker ut og at caspaser kan dannes og spalte lamener i membran og aktivere endonukleaser.

mutasjoner. Dette skjer ofte ved en **metylering** av deres regulerende sekvens og man får en **hypermutable fenotype**. Ved **HNPCC**¹² er det en defekt i genet for DNA-mismatch repair, *human Msh-2*.

Ved en liten oppsummering ser vi at tumorutvikling er deregulering av proliferering, differensiering og apoptose. Videre er kreft en prosess som fordrer flere mutasjoner og foregår som regel over flere år. Dessuten har den ofte opprinnelse i en unormal celle som er morcellen til en **monoklonal-tumor**.

Videre ser man klart at både arv og miljø er viktige faktorer i kreftutviklingen. Eksemplifisert ved for eksempel retinoblastom med en mutasjon i et RB allel. Eller **karsinogener** i miljøet som virker som mutagener (polysykliske aromatiske hydrokarboner) ved å endre DNA-sekvensen i et gen, eller som **tumorpromoter** (TPA) ved å indusere DNA-aktivitet uten å endre sekvenser. Dessuten er 15 % av all kreft relatert til virus, hovedsakelig DNA-virus. Et eksempel er HPV som øker DNA-replikasjon og hvor proteinene E7 og E6 bindes til RB og gjør derved RB utilgjengelig for transkripsjonsfaktor E2F som derved festes promotorelementet og S-fasegener transkriberes. E6 inaktiverer p53 og man får samme prosess som beskrevet ovenfor om tumorsuppressorgener.

4. **Apoptose gener** som for eksempel *Bax* er tidligere nevnt under samvirke med *bcl-2*.
5. Telomerer ved endepunktene av kromosomene som inneholder gjentatte nukleotide sekvenser, er nødvendig for at kromosomene skal replikeres. Enzymet **telomerase** legger til multiple kopier av samme type telomer DNA- sekvens til enden av kromosomet og kan *sabotere* naturlig aldring i celler. Dette kan vi se i kreftceller hvor den naturlige reduksjon i telomerlengden ikke forekommer men hvor telomerasen tvert imot opprettholder og forlenger telomerlengden.

Vekstfaktorer kommer utenfra cellen og kan bli regulert av et protoonkogen for eksempel PDGF som aktiverer *ras*. Dersom et onkogen har overtatt rollen (for eksempel *PDGF-V-SIS*) vil ”*ras*” føre til en overekspresjon av vekstfaktor *TGF- α* .

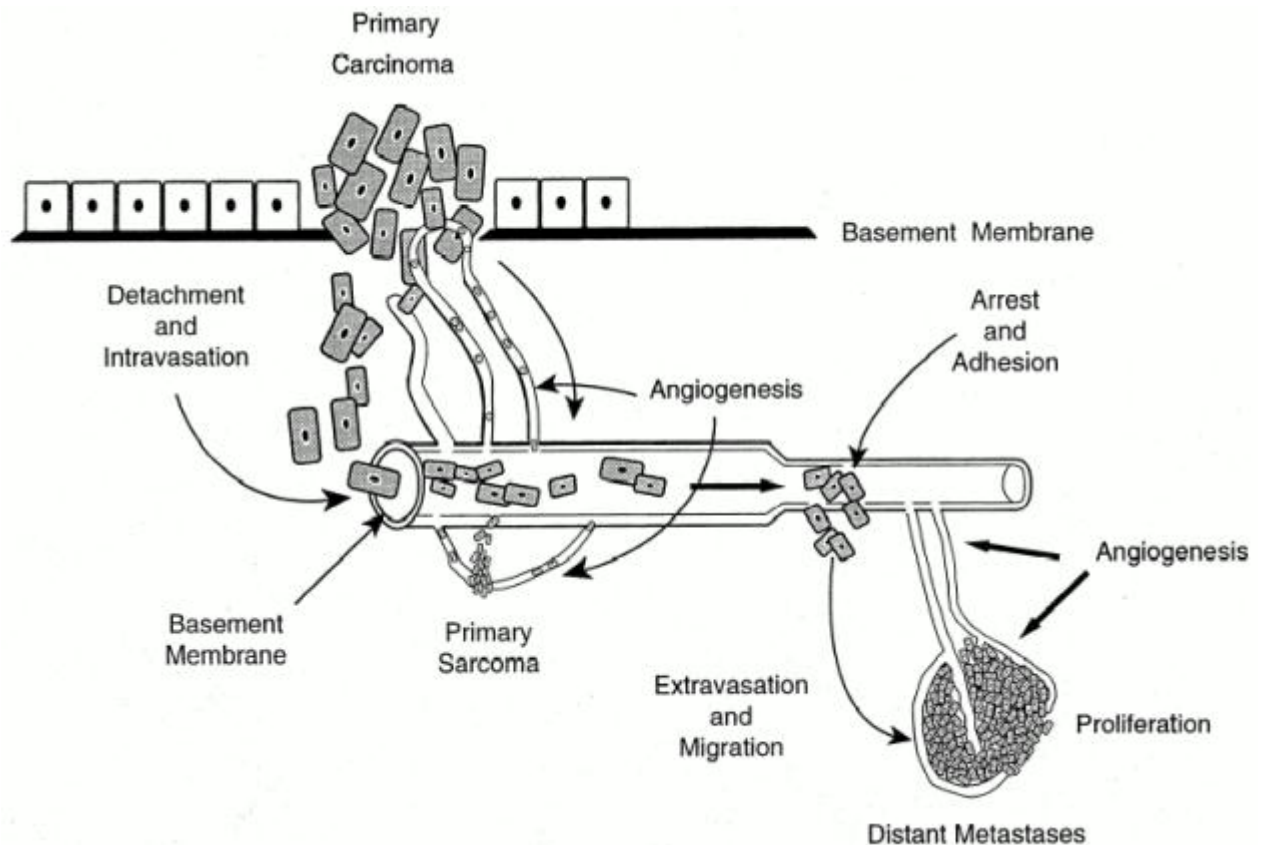
Vekstfaktorreseptor (for eksempel *EGF-reseptor*) kan også overuttrykkes. Disse blir regulert av protoonkogener vanligvis.

Metastasing (=lymfatisk eller hematogen utsåing av kreftceller i kroppen)

- Tumorcellene må kunne løsne fra primærtumorceller ved tap av **E-cadheriner**.
- Invadere basalmembran, ved hjelp av **laminin** og **fibronectin**.
- Feste seg til endotelcellene.
- Invadere et distalt organ
- Degradering av ECM¹³ og bindevev ved hjelp av proteolytiske enzymer fra tumor.
- Migrasjon.

¹² HNPCC: **H**ereditær **n**onpolypøs **c**olorectal cancer.

¹³ ECM: **E**kstracellulær **m**atriks.



FIGUR 2 Hovedtrinn I metastasering.

W.B. Saunders Company items and derived items copyright © 2001 by W.B Saunders Company.

Basalcellecarcinomer og primærtumores i CNS er høyt invasive men sjeldent metastaserende, mens osteogene sarkomer ofte er metastasert til lunger. Metastasering henger ofte sammen med grad av anaplasi.

Etiologiske årsaker til forandringer i DNA, cellesyklus og differensiering deles tradisjonelt inn i:

- Kjemiske karsinogener.
- Stråling.
- Virale årsaker.
- Spontane mutasjoner.

TUMORIMMUNOLOGI:

Tumorimmunitet oppstår når immunforsvaret gjenkjenner små forskjeller mellom normale celler og tumorceller. Dette skjer gjennom en kaskade av cellulære og humorale interaksjoner, direkte cytotoksiske celler og antistoff mot tumorceller.

Antigenenes immunogenisitet er særdeles viktig med tanke på hvilket antigen man skal bruke ved en kreftvaksine. Selv om antigener fra en tumor er spesifikke, er det ikke sikkert at deres immunogenisitet er optimal. Derfor må ”nye antigener” som følge av somatiske mutasjoner vurderes oppimot **differensieringsantigen** og **virale antigener**. Vanligvis i den kliniske hverdag har man ikke reelle valgmuligheter mellom flere antigener for en malign tilstand og man kan derfor ikke velge antigen med best immunogenisitet. Et antigen har flere epitoper men kun lymfocytter med reseptor som passer for et spesifikt epitop stimuleres, dvs. et antigen kan stimulere mange forskjellige lymfocytter. Dette kalles **polyklonalitet**. Et sentralt begrep for å forstå T-celleaktivering ved antigen presentasjon er *den immunologiske synapse*.

Tumorspesifikke antigener:

- Somatiske mutasjoner i kreftcellene, såkalte **onkogener**, danner nye antigener (p21ras- gastrointestinal adenocarcinom)
- Differensieringsantigener er overuttrykte gener, for eksempel *tyrosinase* (som i malignt melanom), som uttrykkes på normale celler, men spesielt på kreftcellene.
- Kromosomale translokasjoner eller fusjonsproteiner for eksempel BCR/9:22 translokasjon (ved for eksempel myelogen leukemi)
- Virale antigener HPV¹⁴ (som i cervixcancer).

Det er idag beskrevet et stort antall antigener som kan tjene som T-cellemål i immunterapi av cancer. [6]

Gruppe 1: Cancer / testis antigener (CT-antigener). Navnet er gitt fordi disse uttrykkes på histologisk spesielle tumorer og i normale vev, f.eks. spermatocytene i testis og av og til i placenta. Ekspresjon i tumorer er grunnet reaktivering av gener som vanligvis ikke uttrykkes i voksent vev. Ekspresjonen i testis er ingen målskive for immunapparatet fordi spermatocytene ikke har MHC type I molekyler. Viktigste gruppe antigener her er MAGE-gruppen.

Gruppe 2: Differensieringsantigener. Disse finnes i tumorer og i de normale vev som tumoren oppstod fra. De fleste er uttrykt i melanocytter og er involvert i biosyntesen av melanin. Viktige grupper antigener er MART-1, Gp100, PSA.

Gruppe 3: Bredt utbredte antigener. Dette er gener som ikke er knyttet til spesielle vev og har et bredt ekspresjonsmønster. Det er mulig at uttrykket i normale vev er under en viss terskel slik at T-cellene ikke reagerer på disse antigenene. Ved tumortransformasjon

¹⁴ HPV: Human papillomavirus.

av vev kan det forekomme en overekspresjon og dermed brudd på terskelen. Noen antigengrupper i denne kategori er CEA, HER2/neu, MUC1, MUC2.

Gruppe 4: Tumorspesifikke antigener. Unike tumorantigener fra punktmutasjoner av normale gener. Disse antigenene finnes ofte bare i de tumorene de ble identifisert i, unntatt mutasjoner i gener som er nødvendige i den neoplastiske transformasjonsprosess (f.eks. ras). Denne gruppen antigener er vist i dyrestudier å være mest immunogene, men de er vanskelig å bruke i klinisk praksis fordi de er så unike. Noen antigengrupper i denne kategori er AFP og ras, MUM-gruppen, TRP-2/INT2. Til denne gruppe hører også Gp100, PSA, MAGE-gruppen, MUC1, tyrosinaser.

Gruppe 5: Fusjonerte proteiner. I noen krefttyper involverer den molekylære mekanismen for kreftutvikling translokasjon av kromosomer og fusjon av gener som ligger langt fra hverandre. Derav følger fusjonerte proteiner som karakteriserer krefttypen. Eksempler er bcr-abl, pml-RAR.

Flesteparten av de beskrevne antigener har blitt oppdaget med utgangspunkt i allerede eksisterende antigenspesifikke T-celler. Det kan derfor tenkes at disse ikke er optimale, siden det allerede har vært T-celler med spesifisitet for disse som ikke har klart å utrydde kreftcellene.

Flere nye tilnærminger er idag utviklet for å oppdage nye antigener. Disse metodene går på mRNA og proteinekspresjon. Det dreier seg om proteomicsbaserte metoder (bla. kartlegging av proteinsammensetning og intracellulære signalmekanismer), serieanalyser av genekspressjon (SAGE – fastsetter bl.a. basesammensetning i mRNA), subtraksjon hybridisering (identifisering av beslektede gener i forskjellige typer celler), microarray analyse og PCR-baserte teknikker. Flere nye og kjente gener har vist seg å være uttrykt i økt mengde av tumorceller ved hjelp av disse nye tilnærmingene. Kandidatantigener som både er tumorspesifikke, overuttrykt og hvis det viser seg at det allerede fins et immunsvaret mot vil sannsynligvis vise seg å være de beste.

Tumorassosierte antigener (TAA):

Normale celler utviser en mangfoldighet av molekyler som gjenkjennes av immunsystemet som ”selv”, og derfor ikke provoserer frem en immunrespons. Men ved overgang fra en normal til en malign celle, kan endringer i karakter og utseende oppstå hos disse celleoverflatemolekylene. Når disse molekylene endres tilstrekkelig, kan de tillate verten å gjenkjenne en tumor som ”ikke selv”, noe som setter i gang **immunforkastelse**. Dessverre ser det ut som et begrenset spekter av tumorantigener er forskjellige fra de på normale celler, og majoriteten av **tumorassosierte antigener (TAA)**, finnes som regel på en, hvis ikke flere, typer av normale celler. Likevel blir nå stadig nye humane TAA identifisert.

Bevis på eksistens av TAA som kan mediere immunforkastelse var først oppnådd fra dyrestudier. Utgangspunktet var eksperimenter utført på mus av *Thierry Boon* og medarbeidere. De behandlet en tumordannende cellelinje med et kjemisk mutagen og isolerte en variant av den opprinnelige cellelinjen som ikke førte til svulstdannelse. Disse cellene

ble kalt **tum** (tumor negative). Tilsynelatende hadde det skjedd en forandring med disse cellene som gjorde at immunsystemet eliminerte dem, og man mente at de uttrykte spesielt sterke **tumorforkastelsesantigener**. Denne forskningen viste også at mus som først var blitt utsatt for tum-celler, var i tillegg beskyttet mot tumorutvikling ved injeksjon av den opprinnelige tumorogene cellelinjen. Den mest sannsynlige forklaringen på disse resultatene var at den opprinnelige cellelinjen og tum-varianten hadde ett eller flere antigen-felles som kunne forårsake tumorforkastelse, men at tum-celler var mer **immunogene** enn de opprinnelige. Konklusjonen og den videre arbeidshypotesen ble dermed at de fleste tumorceller uttrykker antigener som kan bli gjenkjent av immunsystemet, selv om spontane svulster uttrykker dem i konsentrasjoner som ikke fører til en immunrespons. Ved hjelp av avanserte molekylærbiologiske teknikker lyktes det *Boon* og hans gruppe å isolere et tumorforkastelsesantigen fra humane melanomceller (hudkreftceller). Antigenet ble kalt for **MAGE-1**¹⁵ og viste seg å være produkt av et normalt gen som blir uttrykt i få andre celler. Peptider fra MAGE-1 har vist seg å bli presentert for T-celler ved hjelp av HLA-A1 molekyler, og det har vært mulig å påvise spesifikk T-cellereaktivitet mot antigenet. I den senere tid har man lyktes i å identifisere flere andre humane tumorforkastelsesantigener som er immunogene.

For å fremkalle en immunreaksjon, må B-celler, makrofager, eller **antigenpresenterende celler (APC)** kunne detektere TAA på humane tumorer, for dernest å initiere antigenprosessering. I tillegg må TAA's distribusjon være begrenset enten til ingen normale celler eller til en relativ liten populasjon av normale celler som ikke er essensielle for overlevelse, og på denne måten begrense de potensielle bivirkninger av immunterapi. Eksempelvis, selv om onkogenet **HER2-neu (ERBB2)** og dets proteiner er presentert på en rekke normale vev, er de dramatisk overpresentert i et stort andel av bryst- og ovariecancer.

Antistoffer som gjenkjenner TAA har blitt oppdaget i sera fra kreftpasienter. Men i de fleste tilfeller, er de blitt funnet i både normale og tumorsera. I en stor prosentdel av pasienter, kan antistoffer som binder seg til celler fra andre donorer, med samme histologiske tumortype bli detektert. Hos langt færre pasienter, har antistoffer blitt isolert, som er spesifikke for pasientens egne tumorceller. Per i dag, har produksjon av humane monoklonale antistoffer, som er kapable til å gjenkjenne spesifikke TAA, vist seg å være teknisk vanskelig. Men denne teknologien forbedres stadig.

Superantigener:

I motsetning til konvensjonelle TAA, er **superantigener** potente immunstimulerende molekyler som er kapable til å aktivere T-celler uten internalisering og prosessering av antigenpresenterende celler. I likhet med konvensjonelle antigener, må superantigener først binde seg til en celle som uttrykker klasse II MHC molekyler, før de kan presenteres for **T-effektorceller**. Men superantigener er i stand til å initiere drap av tumorceller, ved direkte aktivering av **cytotoksiske T-celler**, cytokin-indusert aktivering av **NK (natural killer) celler**, og superantigen-avhengig celledmediert cytotoxicitet.

Celler involvert i drap av tumorceller:

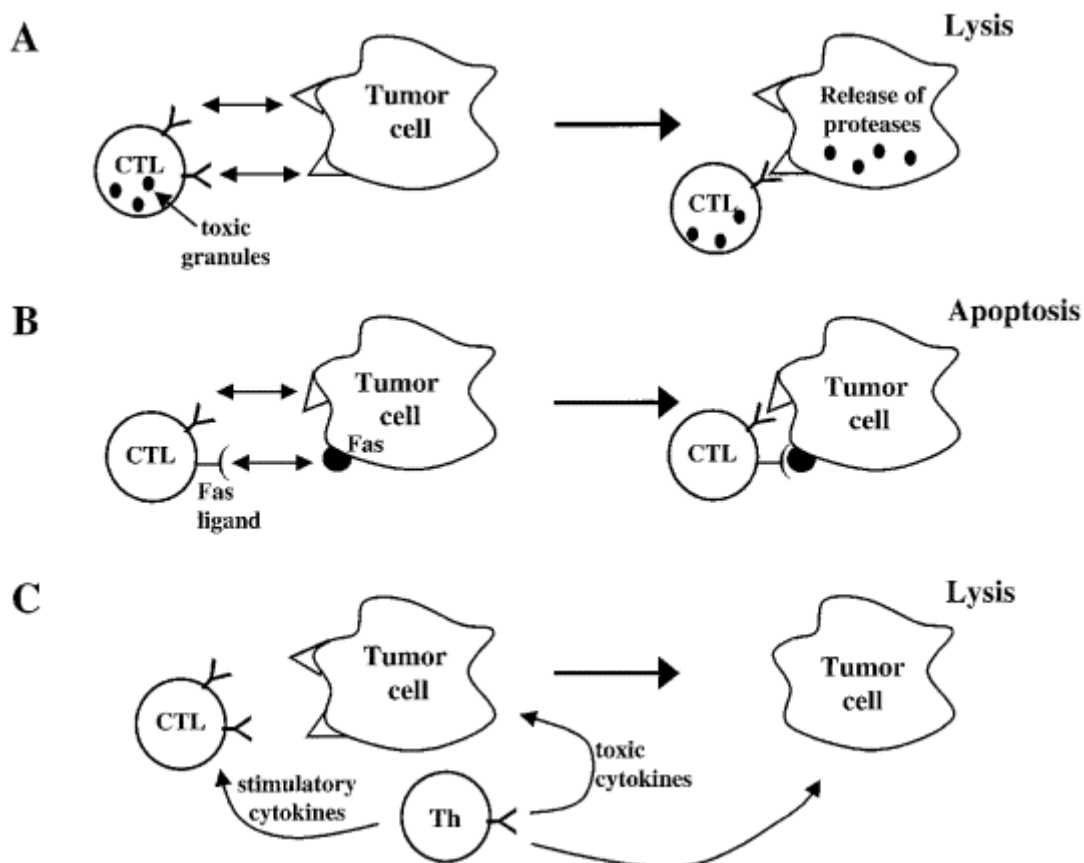
Et konglomerat av forskjellige immunceller er kapable til å yte cytotoxisk aktivitet mot tumorceller.

¹⁵ MAGE-1: Melanoma antigen 1.

Cytotoksiske T-lymfocytter (CTL) og Tumorinfiltrerende lymfocytter (TIL):

Ved hjelp av dyremodeller, klarte forskere å vise at en T-celle subpopulasjon, CTL, kunne gjenkjenne og eliminere spesifikke tumorantigener. Man så også at CTL måtte være i kontakt med tumoroverflaten, for å initiere drap av tumorceller. Selv om de underliggende prosessene som leder til CTL-mediert destruksjon av tumorceller forblir en enigma, har direkte membran interaksjoner, lymfotoksiner, perforiner, fosfolipaser, sekresjon av cytokiner fra T-celler og induksjon av apoptose vært implisert i CTL-mediert drap av tumorceller.

I betraktning av disse dyremodellene, søkte forskere etter T-celler i mennesket som på samme måte kunne gjenkjenne spesifikke TAA, noe som resulterte i isolasjon av TIL fra pasienter ved å dyrke solide tumor eksplanter. Disse cellene ser overveiende ut til å være T-lymfocytter, og de har vært isolert fra pasienter med melanom, sarkom, nyrecelle-, bryst-, ovarie-, kolon-, pankreas- og hals- og hodekarsinomer, og burde anses som aktive CTL.



FIGUR 3 Mekanismer som cytotoksiske T-lymfocytter benytter for å drepe tumorceller.

Natural Killer Cells (NK-celler):

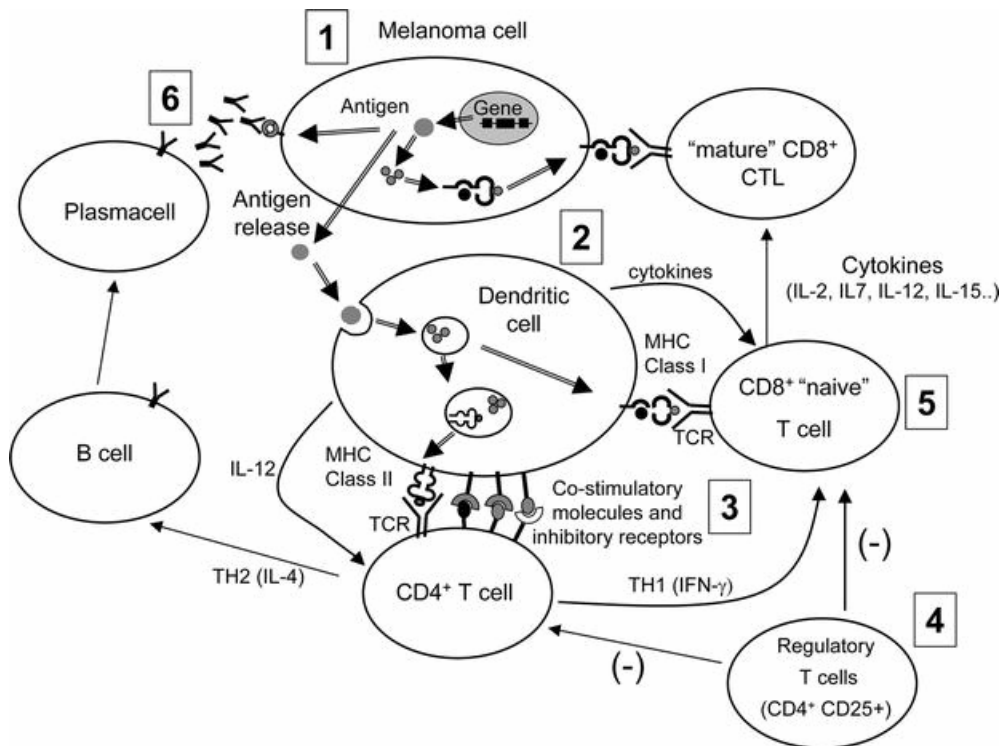
I likhet med CTL, inneholder NK-celler cytotoksiske granula, som består av komponenter som **perforin** (et komplementrelatert molekyl) og **granzym**. Både CTL og NK-celler deltar i drap av tumorceller ved først å opprette cellekontakt med deres målceller. Etter at NK-cellen oppretter cellekontakt med tumorcellens overflate, frigjøres innholdet i granula og overføres til tumorcellen, hvor de fører til **apoptose**.

Lymfokin-aktiverte dreperceller (LAK-celler, Lymphokine-Activated Killer Cells):

Under søken etter cytotoksiske lymfocytter, ble det vist at en subpopulasjon av lymfocytter i perifert blod kunne bli aktivert *in vitro*, dersom man brukte høye doser av IL-2. Dette genererte celler som var cytotoksiske mot tumorceller som ellers var resistente mot NK-aktivitet. En stor forskjell mellom LAK-celler og CTL er at LAK-celler demonstrerer cytolyse mot et bredt spekter av både ferske og dyrkede tumorceller, som er MHC-uinnskrenket. LAK forløper- og effektorceller kan bli identifisert innen lymfocytt cellelinjen som CD3-/CD56+, noe som også gjelder NK-celler.

Hvordan unnslipper tumorceller immunsystemet?

For at man skal få til en vellykket immunisering, må vi først forstå de unnvikende manøvrer som tumorceller foretar seg for å unnslippe immunsystemet. Flere hendelser kan bidra til en mislykket antitumor respons hos kreftpasienter.



FIGUR 4 Mekanismer for hvordan tumorceller unnslipper immunsystemet.

From the Symposium in Writing on "Tumor escape from the immune response", published in vol 53

Heterogen antigenekspresjon

Den **cellulære heterogeniteten** av mange tumorceller har lenge vært kjent, både i form av deres fenotype og genotype. Dette faktum er relevant for noen fremgangsmåter av immunterapi når TAA ikke er globalt uttrykt av alle celler i en tumor. Det finnes subpopulasjoner av celler som ikke uttrykker immunogene antigener i det hele tatt. Det er blitt foreslått at denne observerte heterogeniteten i antigenekspresjon av og til kan relateres til forskjellige faser av celledyklusen, skjønt dette kun er blitt observert *in vitro*. Ikke desto mindre, må forskere være klar over at til tross for en potensiell produksjon av antigener ved tumorceller, er de ikke alltid fremvist på celleoverflaten på grunn av enten en inadekvat prosessering, eller en mislykket presentasjon sammen med passende MHC-determinanter.

Indoleamin 2,3-dioxygenase (IDO)

IDO er et enzym som er utbredt i kroppen og som omdanner tryptofan til N-formylkynorenine. Mangel på tryptofan i nærvær av tumor fører til at T-celler stanses i G1-fase i celledyklus.

Nedregulering av HLA type I

Tumorceller nedregulerer ekspresjon eller endrer fenotypen til HLA-molekylene. Dette medfører at det presenteres færre potensielle tumorassosierte antigener.

Hemming av apoptosesignaler

Tumorcellene inhiberer signalveier som medfører celledød. For eksempel gjelder dette en blokkering av informasjon fra FAS/FAS-L-komplekset.

Immunosuppressive celler (CD4+ CD25+) og faktorer

Flere studier har vist at den tumorbærende verten er immunosupprimert av den voksende tumor, noe som er en stor ulempe når det gjelder forsøk på aktiv immunterapi. Immunosuppressive celler har vært identifisert blant subpopulasjoner av NK-celler, T-celler og mononukleære fagocytter. Ved fremstilling av vaksiner kan slike celler følge med i vaksinen da de sitter fast på tumorvevet som vaksinen fremstilles fra. Disse cellene kalles også T-regulatoriske celler.

I tillegg er frigjøring av humorale **suppressorfaktorer** / cytokiner blitt påvist. Eksempler er forhøyet VEGF (vaskulær endotelial vekstfaktor) som virker på angiogenesen og hemmer modningen av dendritiske celler.

Endring i ekspresjon av signaltransduksjon

Tap av CD3 ζ – kjeden er blitt studert i forbindelse med kreftutvikling og fører til defekt T-celleaktivering.

Tap av kostimulering

Dette er kjent mekanisme at tumorceller mangler kostimulatoriske signaler for aktivering av naive T-celler. Slike T-celler som ikke får kostimulasjon vil bli anerge.

Pasientens immunkompetanse

- Evnen til en pasients immunsystem til å gjenkjenne og drepe en tumor varierer direkte med vedkommendes ernæringsstatus og omvendt med tumorbyrden. Cellemediert immunitet ser ut til å være mest påvirket av proteinfeilernæring, selv om den humorale immunitet samt funksjonen til fagocytter også blir svekket.
- Cellulære immundefekter er blitt observert i ulike typer human cancer, eksempelvis, Hodgkins sykdom, disseminerte carcinomer, kronisk lymfatisk leukemi, og ovariecancer.
- Cancerterapi kan også redusere en pasients immunkompetanse. Det er en forbigående depresjon av T-celle og B-celle nivåer etter både kirurgi og strålingsterapi. I tillegg er visse kjemoterapeutika immunsuppressive.

Generelt når en tumor blir klinisk oppdaget, har den vært tilstede i ganske lang tid. En 1-cm³ tumor kan inneholde over en milliard maligne celler ved diagnose. Derfor, når man først oppdager en slik tumor, kan tumorstørrelsen simpelthen overvelde den cytotoksiske kapasiteten av selv en stor immunrespons. Av den grunn vil en optimal immunterapi trolig finnes hos pasienter med mikroskopisk sykdom som har fått eliminert all klinisk tumor med konvensjonelle terapiformer som kirurgi, stråling, og kjemoterapi, etterfulgt av adjuvans.

BEHANDLING OG FOREBYGGELSE AV KREFT MED VAKSINER:

Perspektiv:

I mange år var kreftbehandling fokusert primært på kirurgi, kjemoterapi, og strålebehandling. Men ettersom forskere stadig lærer mer om hvordan kroppen bekjemper kreft, blir nye behandlingsmetoder som utnytter kroppens potensielle forsvarssystem utviklet, inklusive forsøk på å forebygge noen typer av cancer.

Terapiformer som utnytter kroppens immunsystem for å bekjempe eller forebygge cancer blir kalt immunterapi og representerer en type **biologisk behandling**.

Kreftvaksiner representerer en ny type biologisk behandling som fortsatt for det meste er eksperimentell. Per i dag (november 2004), er det ingen kreftvaksiner som er godkjent som standardbehandling for noen type cancer. Dette betyr at kreftvaksiner er kun tilgjengelig for de som melder seg på kliniske forsøk.

Mange kliniske forsøk som tester vaksiner som en potensiell behandling for et vidt spekter av cancertyper er i gang, og stadig flere er på vei. **Hepatitt B vaksine** brukes i dag som den eneste godkjente vaksinen for forebyggelse av hepatitt B, da infeksjonen kan gi leverkreft. Andre vaksiner som kan forebygge eller redusere risikoen for cancer, er også under pågående utprøving.

Hva er en vaksine?

Betegnelsen **vaksine** er avledet fra det latinske ordet for ku (*vacca*), og refererer til forsøk utført av den engelske legen *Edward Jenner* mot slutten av 1700-tallet. Han observerte at mennesker på den engelske landsbygda som arbeidet med storfe og hadde vært utsatt for kukoppesmitte, så ut til å kunne unngå vanlig koppesykdom. Smittestoffet som førte til kopper hos storfe, gav bare beskjedne symptomer i mennesket, men Jenner konkluderte med at kukopper likevel måtte gi en eller annen form for beskyttelse. Han gjennomførte deretter et forsøk som i våre dager ville blitt sett på som etisk uakseptabelt. Jenner infiserte nemlig en ung gutt med kukoppesmitte, og ventet til vedkommende var blitt helt frisk igjen. Deretter injiserte han materie fra koppepustler under huden på gutten som så ut til å indusere en immunrespons som gav beskyttelse mot humant koppevirus. Jenners forsøk var starten på utviklingen av en ny disiplin innenfor forebyggende helsearbeid, og i dag er vaksineutvikling en sammensatt og krevende vitenskap som kombinerer detaljkunnskap om infeksjonssykdommer, infeksjonsforsvarets virkemåte og moderne bioteknologi.

En vaksine er en substans som er konstruert for å stimulere immunsystemet til å sette i gang en **immunrespons**. Denne responsen er rettet mot spesifikke mål, eller antigener, som er en del av vaksinen. Eksempelvis inneholder influensavaksinen kopier av influensaviruset som forårsaker influensa. Antigenene på virusene i vaksinen stimulerer immunsystemet til å produsere celler som kan bekjempe influensaviruset hvis det skulle vise seg i vertens nese eller svelg. For at influensavaksinen skal virke, må den gis minst to uker før en eksponeres for viruset. Immunsystemet trenger disse to ukene for å kunne produsere immunceller som kan angripe influensaviruset. Fordi influensaviruset endrer seg fra år til år, må en ny influensavaksine lages hvert år. Imidlertid vil vertens immunsystem kunne beskytte deg mot fjorårets influensatype. Denne type vaksine er kalt **forebyggende vaksine** – den stimulerer en langvarig immunitet som hjelper deg å ikke bli syk i mange år, og kanskje for evig.

Hva er kreftvaksiner?

Kreftvaksiner er ment å enten behandle en eksisterende cancer, eller å forebygge utviklingen av cancer. Kreftvaksiner er utviklet for å forsterke kroppens naturlige forsvarsmekanismer mot cancer som allerede har utviklet seg. Disse vaksinene kan hindre en eksisterende tumor fra å vokse, stoppe en tumor i å residivere etter behandling, eller å eliminere gjenværende cancerceller etter forrige behandling. Både T- og B-celler kan aktiveres i immunresponser mot cancer, som behandlingsvaksiner eller som forebyggende vaksiner. Med forebyggende vaksiner rettet mot infeksiose agens som forårsaker cancer, kan de aktiverte B-cellene produsere antistoffer som bindes til de infeksiose agens og dermed interfererer med deres evne til å infisere celler. Siden slike agens må infisere celler for å gjøre dem ondartede, vil dette redusere risikoen for kreftutvikling.

Forebyggende kreftvaksiner blir gitt til friske mennesker og er konstruert med sikte på å bekjempe infeksiose agens som kan forårsake cancer. Hepatitt B vaksine er et slikt eksempel (se over). Et annet eksempel er vaksine mot **human papillomavirus (HPV)**, som trolig er en nødvendig faktor i de fleste tilfeller av cervixcancer.

Substanser som brukes for å lage vaksiner

Vaksiner kan utvikles ved bruk av spesifikke molekyltyper fra virus eller celler, inklusive molekyler fra bakterieceller eller humane celler. Disse molekylene kan inneholde et enkelt antigen eller flere forskjellige antigener. Karbohydrater, proteiner, og peptider er blant molekyltyper som har blitt brukt for vaksineutvikling. DNA- og RNA-molekyler som inneholder genetiske instruksjoner for en eller flere antigener kan også anvendes som vaksiner.

I tillegg kan hele virus eller celler, eller deler av virus eller celler som inneholder forskjellige molekyltyper brukes for å lage vaksiner. For eksempel består influensavaksinen av inaktiverte hele virus. Dersom hele humane celler blir brukt som vaksiner, er de vanligvis behandlet tilstrekkelig med stråling for enten å hemme celledeling, eller for å drepe dem.

Strategier for cancervaksine

For ikke mange år siden, trodde forskere at immunsystemet forhindret cancer fra å vokse ved å patruljere kontinuerlig for cancerceller, for deretter å drepe dem når de ble detektert. Man trodde at vekst og spredning av cancer var et resultat av et sammenbrudd i immunsystemet. I et forfallent immunsystem, er antitumorresponser ikke effektive. AIDS epidemien har vist at dette er riktig når det gjelder særlig de virus induerte kreftformene. Når det gjelder andre kreftformer er det mer usikkert. Forskere vet nå at kraftige immunresponser mot kreftceller er vanskelig å generere. De prøver å finne ut om måter som kan forsterke immunsystemets bekjempelse av cancer.

Som tidligere nevnt er en av immunsystemets oppgaver å kunne skille ”selv” fra ”ikke selv”. For at vi skal holde oss friske må immunsystemet kunne ”tolerere” normale celler og gjenkjenne samt angripe abnorme celler. For immunsystemet er cancerceller marginalt forskjellig fra normale celler. Dermed vil immunsystemet stort sett heller tolerere cancerceller enn å angripe dem. Selv om toleranse er helt essensielt for å hindre at immunsystemet angriper normale celler, er toleranse av cancerceller problematisk. Kreftvaksiner må ikke bare provosere en immunrespons, men også stimulere immunsystemet sterkt nok til å overkomme denne toleransen over cancerceller. En annen grunn for at kreftceller ofte ikke stimulerer en kraftig immunrespons, er at de har utviklet måter å unngå immunsystemet på. Man forstår noen av disse mekanismene. For eksempel vil cancerceller ofte kvitte seg med noen typer molekyler som får immunforsvaret til å angripe dem. Som et resultat av dette blir cancercellene mindre ”synlige” for immunsystemet. Forskere bruker nå dette kunnskap for å konstruere mer effektive kreftvaksiner. De har utviklet flere strategier for å stimulere immunresponser mot cancer, inklusive følgende:

- Identifisere uvanlige eller unike cancerrelaterte molekyler som sjelden er presentert på normale celler og anvende disse såkalte tumorantigener som vaksiner.
- Intervenere for å gjøre tumorantigener mer synlige for immunsystemet. Dette kan bli gjort på flere måter:
 - Endre litt strukturen på et tumorantigen (fremmedgjøre den enda mer) og administrere dette endrede antigenet som vaksine. En måte å endre et antigen på, er å modifisere genet som gir opphav til antigenet. Dette kan gjøres i laboratoriet.
 - Putte genet for et tumorantigen inn i en viral vektor (et harmløst virus) og bruke viruset som et middel for levering av genet til cancerceller eller

- normale celler. Celler som infiseres med denne virale vektoren vil produsere mye mer tumorantigen enn ikke-infiserte celler og kreftceller kan dermed bli mer synlige overfor immunsystemet. Celler kan også bli infisert med en viral vektor i laboratoriet og bli administrert til pasienter som en vaksine. I tillegg kan pasienter bli infisert (altså bli vaksinert) med en viral vektor som enda en måte for å få virus-infiserte celler inn i kroppen.
- Putte gener for andre molekyler som normalt hjelper til å stimulere immunsystemet inn i en viral vektor som enda en måte for å få virus-infiserte celler inn i kroppen på, såkalte adjuvanter.
 - Anvende preparerte dendritiske celler eller andre APC som en vaksine. Det er tre måter å preparere dendritiske celler på:
 - APC kan bli foret med tumorantigener i laboratoriet og deretter bli injisert i en pasient. De injiserte cellene er da primet til å aktivere T-celler.
 - Alternativt kan APC bli infisert med en viral vektor som inneholder genet til et tumorantigen.
 - En tredje måte er å lage en primet APC, er å fore cellenes DNA eller RNA som inneholder genetisk kode for antigenet. APC vil så produsere tumorantigenet og presentere det på deres overflate.
 - Anvende antistoffer som har antigen-bindende seter som ligner på et tumorantigen. Disse antistoffene blir kalt **anti-idiotype antistoffer**. De kan stimulere B-celler til å produsere antistoffer mot tumorantigener. Anti-idiotyp antistoffer presenterer antigener til immunsystemet på en ulik måte.

Hvordan fremstille kreftvaksiner til behandling

Behandlingsvaksiner kan lages ved bruk av tumorantigener eller celler, fra pasienten selv eller fra andre. Tumorer av samme type har ofte felles antigener.

En kreftvaksine kan enten konstrueres fra hele tumorceller eller fra substanser som en tumor inneholder, altså antigener.

Når det gjelder helcellede tumorvaksiner, blir tumorceller hentet fra pasient(er), og deretter dyrket i laboratoriet. Videre blir tumorcellene behandlet for å sikre at; (1) de ikke lenger kan multiplisere seg, og (2) de ikke inneholder noen substanser som kan infisere pasienten. Når da hele tumorceller er injisert i en person, utvikles en immunrespons rettet mot antigenene på tumorcellene. Det finnes to typer av hele tumorvaksiner:

- En **autolog** helcellevaksine er laget av pasientens egne hele, inaktiverte tumorceller.
- En **allogen** helcellevaksine er laget av en annen persons hele, inaktiverte tumorceller eller flere personers tumorceller kombinert.

Tilleggsingredienser:

Kreftvaksiner har ofte tilleggsingredienser, kalt **adjuvans**, som hjelper å øke immunresponsen. Substansene kan også bli gitt hver for seg, med den hensikt å øke vaksinens effektivitet. Mange forskjellige typer substanser har blitt brukt som adjuvans, inklusive cytokiner, proteiner, bakterier, virus, og visse kjemikalier.

ARTIKKELDEL

KLINISK FORSØK:

Hva er et klinisk forsøk?

Kliniske forsøk er forskningsstudier, hvor forsøkspersoner bidrar til å finne måter for å fremme helse og cancerpleie på. Hvert studium prøver å svare på vitenskapelige spørsmål, samt å finne bedre måter å forebygge, diagnostisere eller behandle cancer.

Et klinisk forsøk er et av sluttstadiene i en lang, tidkrevende og grundig kreftforskningsprosess. Studier er gjort med cancerpasienter for å finne ut om lovende fremgangsmåter for forebygging, diagnostisering og behandling er trygge og sikre.

Hva er de forskjellige fasene i et klinisk forsøk?

De fleste forsøk som har til hensikt å teste et nytt medikament, går gjennom en rekke ordnede trinn, kalt **faser**. Dette tillater forskere å stille og å svare på spørsmål. Forskerne får da pålitelig informasjon om medikamentet og kan dermed behandle pasienter på en bedre måte.

Kliniske forsøk blir vanligvis klassifisert i en av tre faser:

Fase I forsøk: Disse første studiene med mennesker evaluerer hvordan et nytt medikament burde administreres (peroralt, intravenøst eller intramuskulært). Videre hvor ofte det skal administrere, hvilken dose som er trygg, samt registrere bivirkninger. I fase I forsøk deltar ofte en liten gruppe (20-80) med forsøkspersoner.

Fase II forsøk: I et fase II forsøk fortsetter man å teste det nye medikamentets sikkerhet, og evaluerer hvordan det nye medikamentet virker. Fase II forsøk fokuserer vanligvis på en type cancer. I fase II forsøk deltar ofte en større gruppe med pasienter (100-300).

Fase III forsøk: I disse studier tester man et nytt medikament, en ny kombinasjon av medikamenter, eller en ny kirurgisk prosedyre, sammenlignet med dagens standardbehandling. En deltager vil vanligvis bli valgt ut til gruppen med standardbehandling eller til gruppen som mottar den nye typen behandling tilfeldig (randomisering). Man ser da på effekt av behandling/medikament, bivirkninger, og samler inn data, slik at medikamentet eller behandlingen trygt kan tas i bruk. I fase III forsøk deltar ofte en stor gruppe med pasienter (1000-3000).

Monitorering av immunrespons hos pasienter:

I mange eksperimentelle forsøk brukes immunologiske endepunkter istedenfor klinisk respons. Eksempler på slike er: ELISA, måling av interferonproduksjon, tetramerbinding.

Vi vil i det følgende gå i gjennom noe av forskningsmaterialet som foreligger for tre forskjellige krefttyper. Det dreier seg om malignt melanom, prostatacancer og lungekreft. Valget er ment å reflektere hovedsatsningsområdene for vaksineutviklingen. Det er spesielt forskningsmengden på maligne melanomer som utmerker seg. Dette er delvis basert på at denne kreftformen er immunogen og at det blant annet er lettere å måle vaksinerespons. Det er også lettere produksjonprosedyrer for vaksiner mot denne kreftformen.

MALIGNT MELANOM:

“Immunopharmacologic Analysis of an Autologous, Hapten-Modified Human Melanoma Vaccine”

Berd et al, Journal of clinical oncology (vol.22, no.3, 2004).

214 pasienter med klinisk stadium III melanom som ble operert melanomfrie etter standard lymfadenektomi ble behandlet med flere intradermale injeksjoner av autolog, DNP-modifisert vaksine blandet med BCG. Fire programmer for vaksinedose ble testet etter hverandre og alle inkluderte lavdose cyclofosfamid. Pasienter ble testet for forsinket hypersensitivitet (DTH) mot autologe melanomceller, både DNP-modifiserte og umodifiserte.

Studien som hadde en observasjonstid på 5 år viste en total overlevelse (overall survival – OS) på 44 %. Denne prosenten er atskillig høyere enn konvensjonell behandling av melanom, stadium III (overlevelse på 20 – 25 %).

DTH-respons mot umodifisert autolog melanom ble indusert i 47 % av pasientene, og ble funnet å være signifikant korrelert med OS. OS var dobbel i pasientene med positiv DTH-respons enn de med negativ, hhv. 59 % og 29 %. DTH-respons mot DNP-modifiserte autologe melanomceller var også tilstede, men ikke signifikant korrelert med OS. Dette viser dermed at det er melanomcellene og ikke adjuvansene som fungerer som antigener.

Som en overraskelse ble det funnet at OS etter residiv var dobbelt så høy, dvs. 25 %, hos de pasientene som viste positiv DTH-respons enn de som viste negativ DTH-respons (OS på 12 %).

Retrospektivt ble det også funnet at utviklingen av DTH-respons var korrelert med tidspunkt for en induksjonsdose i begynnelsen av behandlingsopplegget (injeksjon av umodifisert vaksine tre til åtte dager før cyclofosfamid-dosen gav flere positive DTH-responser).

Våre kommentarer:

Vi presenterer her noen spørsmål som dukker opp i artikkelleserens hode. Selv om disse kanskje ikke er aktuelle for forskergruppen i et såpass tidlig forsøk, lurar vi på om

forsøket har betydning for dagens behandling av malignt melanom. Men uheldigvis forblir dette et ubesvart spørsmål, for samme hvor imponerende resultatene (f.eks. OS på 44 %) kan virke mangler forsøket en randomisert kontrollgruppe. En kontrollgruppe vil kunne ta opp i seg alle typer feilkilder og gjøre resultatene mer brukbare. Videre slås det fast en sammenheng mellom DTH-respons mot umodifiserte celler og OS, og dette ses på som bevis på effekt av tumorvaksine. Men dette er intet entydig bevis. En annen forklaring på sammenhengen kunne jo være at de med positiv DTH-respons er friskere i utgangspunktet og at de ville levd lenger enn de med negativ DTH-respons også uten vaksine. Spinner man lenger på denne tankegangen kan man jo forestille seg at tumorer som viser gjenkjennbare antigener er de tumorene som er minst aggressive. Det er jo også slik at mange av de kjente antigener er differensieringsantigener som uttrykkes på mer differensierte (dvs. mindre aggressive) tumorer. Forskergruppen må uansett berømmes for det omfattende og grundige arbeidet de har gjort, og de har uten tvil produsert resultater som vil komme andre forskere til gode.

“gp100-209-2M peptide immunization of human lymphocyte antigen-A2+ stage I-III melanoma patients induces significant increase in antigen-specific effector and long-term memory CD8+ T cells”

Walker et al, Clinincal cancer research (vol.10, 668-680, 2004).

Modifisert melanompeptid (gp100 209-2M) med adjuvant Montanide (lipidsurfaktant) vaksinert flere ganger over en 6 måneders periode.

Selve peptidet er HLA-A2-begrenset og 35 pasienter med fullstendig resektert stadium I-III melanom med riktig HLA fenotype ble rekruttert.

Periferblod mononukleære celler (PBMC) ble tetramer-analysert både før og etter vaksinerings. Tetrameren binder CD8⁺ T-celler spesifikke for gp100-M (modifisert melanompeptid) og gir dermed et estimat over immunresponsen.

Det ble også gjort cytokin flowcytometri med måling av interferon gamma (IFN-γ).

Resultater:

33 av 35 pas hadde signifikant økning av tetramer+CD8⁺ T-celler (median 0,36 % økn.)

Alle pasientene som hadde økning av tetramer+CD8⁺ T-celler hadde ved flow-cytometri signifikant IFN-gamma produksjon (etter kort gp100-M in vitro aktivering), men ikke alle hadde IFN-gamma produksjon som korrelerte med økningen i tetramer+CD8⁺ T-celler. Kun halvparten av tetramer+CD8⁺ T-celler hadde INF-gammaproduksjon. En mulig forklaring på denne manglende funksjonelle aktiveringen kan være anergi.

Pre- og postvaksinell tetramerfarging av en negativ kontroll (et peptid) viste ingen økning.

8 dagers in vitro gp100-M stimulering (IVS) av pre- og postvaksine PBMC gav signifikant økning av tetramer+CD8⁺ postvaksine celler.

Stimulering ble gjort både med autologe dendritiske celler (DC) (inkubert med cytokiner og peptidet) og peptid/HLA-kompleks. Det viste seg å være høy korrelasjon mellom de to metodene.

Postvaksinelle IVS tetramer+CD8⁺ T-celler responderte med INF- γ produksjon etter stimulering av nativt og modifisert peptid.

INF-gamma-produksjonen etter IVS var ikke i samsvar med økningen av tetramer+CD8⁺ T-celler. Tyder igjen på anergi.

Flow-cytometrisk fenotypeundersøkelse av postvaksine tetramer+CD8⁺ celler viste at det var flest celler av den subtypen som har med effektorfunksjon eller effektor-hukommelse-funksjon å gjøre.

Analyse 12-24 måneder etter vaksinebehandling viste fortsatt gp100-M spesifikke hukommelses CD8⁺ T-celler. Dvs. tetramer+ celler som var betydelig redusert i frekvens men som økte 5 til 16 ganger i antall etter 8 dagers IVS.

Våre kommentarer:

Selv om klinisk effekt kanskje ikke er den primære problemstillingen i et fase I/II-forsøk for forskergruppen er dette likevel noe av det mest interessante for oss. Spørsmål som stilles i den forbindelse er om en økning av tetramer+CD8⁺ T-celler på 0,36 % gjenspeiler en klinisk effekt?

Ville ingen intervensjon eller placebo gitt en liknende økning av tetramer+CD8⁺ T-celler uansett?

Er effekten virkelig relatert til peptidet? Negativ kontroll viser at det ikke har vært en generell aktivisering av immunsystemet, men kan det ha vært andre innholdsstoffer i vaksinen som forårsaket det?

Er en ex vivo undersøkelse representativ for in vivo forhold? Kan man bruke en in vitro stimulering til å karakterisere interpersonell variasjon? Forskergruppen har som delvis svar på denne problemstillingen også tatt en tetramerfarging rett etter prøvetaking og inkubert PBMC med antigen kun i en kort periode. De kaller denne for en "base line"-undersøkelse som de bruker til å supplere og styrke IVS-resultatet.

Hva er mekanismen bak langtidshukommelsen? Det settes fram en teori om at Montanide medvirker til aktivisering av hukommelses CD8⁺ T-celler i en prosess som er uavhengig av MHC type II men som inkluderer NK-celler.

“Clinical and immunologic results of a randomized phase II trial of vaccination using four melanoma peptides either administered in granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in adjuvant or pulsed on dendritic cells”

Slingluff et al, J clin oncol (21:4016-4026, 2003).

26 pasienter fikk vaksine bestående av fire gp100 og tyrosinase peptider begrenset av HLA-A1, -A2 og -A3. Pasientene mottok også systemisk lavdose IL-2. Pasientene ble tilfeldig fordelt til å motta vaksinen som peptidløsning (iblandet GM-CSF, tetanus hjelpepeptid og Montanide adjuvant) eller via monocyttderiverte dendritiske celler (DC). Reaksjon ble målt gjennom produksjon av INF-gamma i periferblod lymfocytter (PBL) og i lymfeknute som drenerer vaksine (sentinel immunized node - SIN). Peptidvaksine ble gitt intradermalt og subkutan, DC-vaksine også gitt i.v. Seks vaksinasjoner over 1 1/2 måned. De første gitt på to steder, et av stedene bestemt langt unna primærfokus for å bestemme mest mulig ren vaksineutløst respons i lymfeknutene som drenerer dette fokus.

Resultater:

Peptidvaksine gav respons hos 42 % PBL og 80 % SIN.

DC-vaksine gav respons hos 11 % PBL og 13 % SIN.

Total respons var signifikant høyere i peptidvaksinegruppa, men PBL var ikke signifikant forskjellig.

Median overlevelse var 15 måneder i peptidgruppa og 6 måneder i DC-gruppa, ikke statistisk signifikant.

T-celle responser mot tetanusvaksine ble målt i PBL etter vaksinerings. Denne korrelerte med T-cellereaktivitet mot melanompeptidene.

Objektive kliniske responser ble observert hos 2 i peptidgruppa (hadde også immunologisk respons) og 1 i DC-gruppa (manglet immunologisk respons). Stabil sykdom observert hos 2 i peptidgruppa og 1 i DC-gruppa.

Men det viktigste resultatet av forsøket var nok at forskergruppen klarte å gjennomføre hele opplegget, spesielt det med prøvetaking av lymfeknuter, på en vellykket måte.

Våre kommentarer:

Det ble ikke gjort noen prevaksinell måling ("baseline"-måling) av SIN og en respons hos 80 % sier derfor ingenting om økning eller effekt av vaksinerings.

Klinisk styrke uteblir fordi placebogruppe mangler. Det er umulig å vite om den observerte immunologiske og kliniske effekt er forårsaket av vaksinen eller noe annet. Dette er dog et fase-II-forsøk og det er derfor ikke påkrevet med kontrollgruppe.

Er respons på vaksine kun et tegn på et funksjonelt immunforsvar (jmf. kommentar til artikkel av Berd et al.)?

Det var forskjeller i administrering av de to behandlingsregimene. DC-vaksinen ble f.eks. også gitt i.v., mens peptidvaksinen bare ble gitt i hud og underhud.

Kan den målte effekten egentlig skyldes effekt av hjelpestoffene (IL, tetanus, Montanide)?

Studien har ikke nok pasienter til å uttale seg noe om klinisk effekt. Men forskergruppen skal ifølge artikkelen rekruttere flere og presentere utvidet forsøk senere.

Hva er årsaken til manglende eller dårligere effekt av DC-vaksine? Forfatterne lanserer en teori (som vi skal diskutere nærmere senere) om at monocyttderiverte dendritiske celler ikke er optimale for antigenpresentasjon. Tvert imot er de toleranseutviklende!

“Interleukin-2 improves tumor response to DNPmodified autologous vaccine for the treatment of metastatic malignant melanoma”

Lotem et al, British j of cancer (773-780, 2004).

34 pasienter med metastatisk malignt melanom mottok dinitrofenyl(DNP)-modifisert autolog cellevaksine. 24 av pasientene fikk i tillegg interleukin-2 (IL-2). Noen startet med IL-2 samtidig med vaksinen, andre startet senere i forløpet av behandlingen. IL-2 ble administrert etter to protokoller, et intravenøst bolus høydoseregime eller subkutan lavdose-regime (17 pasienter). Responsraten for hele gruppen var 35 % (12/34). Av de som fikk respons var det to (begge hadde komplett respons) som kun fikk vaksine mens ti (to hadde komplett, resten partiell respons) fikk en kombinasjon av vaksine og IL-2. Mediantall på responsvarigheten var 6 måneder (3 – 50 måneder). Av de 12 pasientene

som responderte fikk 11 sterk hudreaksjon på subkutan injisert, strålebehandlede ellers umodifiserte, autologe melanomceller. Ingen av pasientene med negativ hudrespons opplevde noen tumorrespons. Pasientene med positiv hudreaksjon overlevde lenger, median overlevelse 54 måneder.

Hudreaktiviteten mot umodifiserte autologe melanomceller viser seg derfor å være en god prediktor for respons og forlenget overlevelse.

Forskergruppen kan også vise til en god responsrate, spesielt for kombinasjonen vaksine og IL-2. Atkins et al. (2000) har funnet en responsrate for høydose IL-2 på 16 %. Melanomvaksiner ved metastatisk sykdom angis ofte å ha en responsrate på mellom 5 % og 15%. Hva kan da forklare den høye responsraten? IL-2's rolle som en potent vekstfaktor for T-celler er utvilsomt sentral i dette. Flere av pasientene hadde også fått cytotoksisk behandling tidligere, slik at antigener har lekket ut fra cellene og allerede "primet" immunforsvaret.

Det finnes også en sammenlikning av høydose- og lavdose-regime for IL-2 behandling. Denne undersøkelsen klarer ikke pga. sitt begrensede omfang å si noe definitivt om dette, men lavdoseregimet viser seg å være nesten like bra som høydoseregimet. Dette er en viktig observasjon spesielt med tanke på bivirkningene som følger høydosebehandling.

[1]

PROSTATACANCER:

"Phase I study of a Vaccine using recombinant Vaccinia virus expressing PSA (Rv-PSA) in patients with Metastatic Androgen-independent prostate cancer (AIPC)".

James Gulley et al. The prostate 53:109-117(2002).

PSA ble valgt som målantigen fordi *Prostata-spesifikt antigen* hovedsaklig bare er uttrykt på prostata epitelceller. PSA er ikke membranbundet og skilles ut. Tumorceller presenter endogene proteiner på overflaten på MHC- komplekser.

I fase I-forsøket (ikke randomisert) med rekombinant *Vaccinia prostata spesifikt antigen(rV-PSA)/PROSTVAC*, undersøkes 42 pasienter fra 44-82 år. Alle hadde prostatakreft med metastaser til ben eller bløtvevslesjoner og stigende PSA, ingen var immunkompromiterte, ingen brukte steroider.

rV-PSA var laget av *Vaccinia virus* fra Wyeth, hele det humane genet av PSA ble satt inn i det virale genomet. Pasientene fikk vaksinen tre ganger med fire ukers intervaller, og vaksinen ble gitt subcutant

Se beskrivelse i *Biologic therapy of cancer: principles and practice*. 3rd ed. Philadelphia: JB Lippincott Co: 2000 p 686-694

Hensikten med studien var å fastslå vaksinens ufarlighet. Videre å fastslå eventuell immunrespons med antitumor effekt målt som fall i PSA nivå.

Resultatene viser ingen alvorlige toksiske reaksjoner, reaksjonene begrenset seg til ømhet og erytemer på injeksjonsstedet. Noen HLA-2 positive pasienter hadde en økning i PSA-spesifikke T-celler. Disse cellene lyserte PSA uttrykkende tumorceller in vitro. Ingen pasienter hadde objektive tumor-responser. Immunresponsene virker ikke sterke nok til at tumores tilbakedannes. Konklusjonen er at vaksiner er ufarlig med de data forsøkene viser. Videre viser de en klar aktivering av immunsystemet og gir et grunnlag for videre studier.

Våre kommentarer:

Studien som er et fase I forsøk, viser at vaksinen ikke er farlig. Forfatterne har fremsatt resultatene på en oversiktlig måte. De immunologiske responsene som ble registrert ved en økning i PSA-spesifikke T-celler viste en positiv effekt av vaksinen in vivo. De har også vist at pasientenes T-celler in vitro kan lysere tumorceller som uttrykker PSA.

"Vaccination of prostatectomized prostate cancer patients in biochemical relapse, with autologous dendritic cells pulsed with recombinant human PSA".

Benoit Barrou et al. Cancer Immunology immunotherapy, 2004:53:453-460

PSA blir lastet opp som rekombinant prostata-spesifikt antigen på dendritiske celler. Dendritiske celler er antigenpresenterende celler som presenterer antigene på deres MHC-komplekser. Dendritiske celler ble utviklet fra CD 14+ monocytter konsentrert med aferease og inkubert med GM-CSF, IL-4, IL-13. Deretter ble DC lastet med TAA, type rPSA.

24 pasienter med gjennomsnittsalder 66 år og med PSA nivåer mellom 1-10 ng/ml ble vaksinert og undersøkt. De hadde alle biokjemisk tilbakefall etter radikal prostatektomi for T1-3, N0, M0 for *prostata-adenocarcinom*. Pasienter behandlet med stråleterapi, antiandrogener eller kjemoterapi ble utelukket.

DC ble rensset ved *elutring* og *pulset/lastet* med human-rekombinant PSA.

Pasientene fikk ni serier med subcutan, intradermal og i.v. injeksjoner. Med ukentlige intervaller for første tre serier så hver fjortende dag for neste tre og så med fire ukers intervaller for de tre siste seriene.

Resultatene etter vaksinen viste en maksimum PSA senkning fra 6-39%, dvs. ingen av pasientene hadde en 50% senkning av PSA nivået sammenlignet med *baseline*. Senkning av PSA nivåer korrelerte med positive hudtester (DTH). Videre forsvant sirkulerende prostataceller i alle pasienter som hadde vært RT¹⁶-PCR positive før vaksinen. Pasientene viste bare lettere tegn på bivirkninger. T-celleresponser var målt ex vivo hos alle 24 pasientene. Det var ikke påvist noen anti-PSA antistoffer hos noen pasienter. Pasientene hadde ingen målbare antitumor responser.

¹⁶ Circulating tumor cells

Våre kommentarer:

Undersøkelsen har tatt sikte på å monitorere immunogen respons på vaksine ved målinger tatt ex vivo. Artikkelen fremstiller på en nøktern måte de resultatene som forefinnes. Selv om de ikke har noen målbare antitumor responser har de klare immunogene responser, og ingen alvorlige toksiske reaksjoner hos pasientene.

"Phase II Randomized study of vaccine treatment of advanced prostate cancer (E7897): A trial of the eastern cooperative oncology group".

HL.Kaufman et al Journal of clinical oncology (vol 22 nr11 june 1 2004).

Pasientene ble delt inn i tre grupper som fikk 1) fire injeksjoner med rF-PSA vaksine (rekombinant fowlpox-virus-PSA vaksine), 2) tre injeksjoner med rF-PSA vaksiner + en rV-PSA (rekombinant vaccinia-virus-PSA), 3) en rV-PSA + tre rF-PSA.

rV- PSA har et cDNA- kopi av humant PSA gen satt inn i *Vaccinia virus*.

rF-PSA har et cDNA- kopi av humant PSA gen satt inn i *fowlpox-virus*.

64 pasienter med tumor begrenset til prostata var med i forsøket. De hadde avsluttet annen behandling minst tre måneder før vaksinasjonen og hadde en PSA med absolutt nivå større enn 2ng/ml og negativ skjelett scanning.

Vira vokste på embryogene epitelceller og var testet for bakterier, mycoplasma, endotoxin.

Det var 20 pasienter i hver gruppe A, B, C.

Resultatene viste mindre plagsomme bivirkninger som hudreaksjoner ved intramuskulær injeksjon og noen fikk hyperglykemi. Ingen av pasientene viste tegn til autoimmune reaksjoner. Det påvist heller ingen tydelige forskjeller i biokjemiske reaksjoner mellom de forskjellige gruppene. Det påvist heller ikke noen klinisk påvisbare resultater. Videre hadde 45,3 % av pasientene ingen økning i PSA etter 19,1 mnd. Mediantiden for PSA-økning var ikke nådd ved 19,1 mnd. Forsøket viser at Rv-PSA og Rf- PSA ble tolerert bra av pasientene. Fortsatt etter to års oppfølgingskontroll var 45,3 % fri for PSA økning, 78,1 % hadde ikke hatt noen klinisk utvikling av sykdommen, 46 % hadde en økning i PSA spesifikke T-celler.

Våre kommentarer:

Forsøket viser interessante resultater i forhold til at 45,3 % av pasientene ikke har noen PSA- økning 19.1 mnd etter gjennomført vaksinasjon. Det kunne vært interessant med randomiserte studier for å se om resultatene ville gi signifikante forskjeller med en kontrollgruppe. Resultatene gir godt grunnlag for å se at vaksinen ikke gir noen alvorlige toksiske reaksjoner.

”Induction of cellular and hummoral immune responses to tumor cells and peptides in HLA-A24 positive hormone-refractory prostate cancer patients by peptide vaccination”.

Masanori Noguchi et el. The prostate 57:80-92,2003

I forsøket hadde man 14 vaksinekandidater hvorav man brukte opptil fire. Alle 14 peptidene kunne indusere cytotoksiske reaksjoner hos T-celler hos pasienter med HLA-24. Zhang et el har tidligere identifisert de 9 mest vanlige uttrykte antigene på prostatacancer celler. Ingen av disse var sterkt uttrykt på hver enkelt cancer celle, noe som antyder nødvendigheten for en *polyvalent vaksine* eller *en blanding av monoclonale antistoffer*. Peptidene som ble brukt var bl.a. SART, CyP, CyB.

10 pasienter som var HLA-A24 positive med adenocarcinoma ble undersøkt. Pasientene hadde vært uten kjemoterapi eller antiandrogen behandling i minst 4 uker.

Før vaksinasjon og syv dager etter ble PBMC stimulert in vitro og høstet på 12 dag. De ble deretter testet for evnen til å produsere IFN- γ som respons på C1R-A24O2 celler lastet med et korresponderende peptid eller HIV-peptid.

Peptidene ble gitt intradermalt dersom de ikke viste noen umiddelbare reaksjoner på hudtest.

Pasientene tålte vaksinen bra men fikk lokale erytem på injeksjonsstedet. Det ble påvist økt respons hos cytotoksiske T-celler både mot peptider og cancer celler hos fire pasienter. Videre ble det påvist anti-peptid IgG -antistoffer i postvaksine sera hos syv av ti pasienter. Det var ingen objektive resultater på de målbare lesjonene. Forsøket viste at vaksinen ikke gir noen alvorlig bivirkninger og at det er peptidspesifikke cytotoksiske T- celle forløpere i 9 av 10 pasienter før vaksine. Undersøkelsen viser at vaksinen gir immunologisk aktivitet men gir ingen klinisk signifikante resultater, dette var heller ikke målsettingen med undersøkelsen.

Våre kommentarer:

Forsøket er gjennomført med ganske få pasienter og det vil være nødvendig å få gjennomført flere studier med et større antall pasienter. Men tanke på toksiske reaksjoner har forsøket vist at vaksinen ikke har alvorlige bivirkninger. De immunologiske resultatene presentert i denne studien vil styrkes hvis det utføres flere forsøk som gir lignende immunresponser.

LUNGECANCER:

"Vaccine-Induced CD4⁺ T Cell Responses to MAGE-3 Protein in Lung Cancer Patients"

Djordje Atanackovic et al. *The Journal of Immunology*, December 22, 2003 (3289-2296)

MAGE-3 antigenet var identifisert gjennom analyser av CD8⁺ T-celle reaktivitet mot en autolog melanom cellelinje. Antigenet blir kodet av et medlem av multigen familien lokalisert på X kromosomet.

MAGE-3 tilhører en mengde cancer/testis antigener som uttrykkes kun på testikulære germinalceller og ingen andre normale celler. MAGE-3 uttrykkes på en rekke ulike tumorer. Selv om ca. 40 % av **ikke-småcellet lungekarsinomer** uttrykker MAGE-3, ser det ut som en immunrespons mot dette antigenet hos pasienter er veldig sjelden.

I denne studien blir det vist at vaksinerings med rMAGE-3 (rekombinant MAGE-3) resulterer i produksjon av anti-MAGE-3 antistoffer, og i generering av peptid-spesifikke CD4⁺ og CD8⁺ T-celler i pasienter med ikke-småcellet lungekarsinom.

Sytten pasienter med MAGE-3 uttrykkende stadium I eller II ikke-småcellet lungekarsinom ble analysert i denne studien. Alle pasienter hadde gjennomgått kirurgisk reseksjon av sin primære lungetumor og hadde ingen tegn på sykdom ved begynnelsen av studien.

For preparering av MAGE-3 proteinet ble et DNA rekombinant fusjonprotein (proteinD MAGE-3/His) uttrykt i *Escherichia coli* AR58 brukt. Denne eksperimentelle vaksinen ble injisert alene eller i kombinasjon med en adjuvans AS02B (adjuvant system 2B).

De ni første pasientene fikk 300 µg av MAGE-3 proteinet, mens de åtte resterende pasientene fikk MAGE-3 proteinet kombinert med adjuvansen AS02.

I denne fase II studien fikk pasientene fire intradermale injeksjoner (protein alene kohort) eller fire intramuskulære injeksjoner (protein med adjuvans) med tre ukers intervall.

Resultater:

Av ni pasienter som var blitt vaksinert med MAGE-3 protein i fravær av adjuvans, utviklet tre en beskjeden men signifikant økning i antistoff mot MAGE-3 proteinet, som ble målt med ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Derimot, av de åtte pasienter som fikk MAGE-3 i kombinasjon med adjuvant AS02B, viste sju en tydelig økning i serumkonsentrasjon av anti-MAGE-3. I denne gruppen ble det i tillegg hos fire pasienter vist en tydelig økning i CD4⁺ T-celle respons mot peptidet MAGE-3.DP4. Hos disse fire pasientene så man også en økning i intracellulære cytokiner. Cytokinene var eksklusivt av Th1 type. Ingen av pasientene fikk en økning i intracellulær konsentrasjon av Il-4, Il-5, eller Il-10 i respons mot MAGE-3. I tillegg ble det observert hos to pasienter som fikk MAGE-3 proteinet, en peptid-spesifikk CD8⁺ T-celle respons.

Våre kommentarer:

Dette er en bra gjennomført fase II studie. Her viser man at vaksinerings med et testisantigen (MAGE-3) gir en kraftig peptidspesifikk CD4⁺ T-cellerespons, noe som

også korrelerte med antistoffrespons og CD8⁺ T-cellerrespons. En svakhet er at det ikke nevnes om pasientene fikk bivirkninger eller ei. Dette er sentralt i et klinisk forsøk.

”Epidermal growth factor-based cancer vaccine for non-small-cell lung cancer therapy”

G. Gonzalez et al. Annals of Oncology 14: 461-466, 2003

I løpet av 1990-årene, har **epidermal vekstfaktor reseptor (EGF-R)** blitt en av de mest attraktive mål for utvikling av nye anticancer medikamenter. I mange kreftceller er vekstfaktorer og/eller deres reseptorer overuttrykt. Denne relasjonen er blitt demonstrert i mange tumorer. Spesielt er uttrykk av EGF-R i ikke-småcellet lungekarsinom korrelert med en høy frekvens av metastaser, tumorinvasjon, dårlig prognose og overlevelse.

I denne studien ble pasienter vaksinert med en av hovedligandene til EGF-R, nemlig epidermal vekstfaktor (EGF), kombinert med et bærerprotein, i et forsøk for å indusere en spesifikk anti-EGF antistoff respons som ville blokkere ligand-reseptor binding.

Pasienter med histologisk verifisert ikke-småcellet lungekarsinom, stadium IIIb eller IV og som ikke var aktuelle for andre typer av onkospesifikk terapi ble valgt ut. De ble inkludert i protokollen fire uker etter deres siste gjennomførte behandling.

Sammenslåtte (pooled) data fra to kliniske pilotforsøk ble evaluert. Begge forsøk var randomiserte studier, med den hensikt å sammenligne sikkerhet og immunogenisitet av vaksiner med en EGF-basert vaksine når to ulike adjuvanter ble anvendt (*aluminum hydroxide (alum)* eller *montanide ISA 51*).

I den første studien ble 20 pasienter randomisert og vaksinert med EGF-P64K adsorbert til alum (10 pasienter) eller emulgert i montanide ISA 51 (10 pasienter). Vaksinen ble administrert intramuskulært (på dag 0, 7, 14, 21, og 51).

I den andre studien, ble ytterligere 20 pasienter randomisert og vaksinert likedan, men alle fikk i tillegg en enkeldose av *cyclophosphamide* 200 mg/m³ tre dager før første vaksinasjon. Sytten av disse 40 pasientene hadde fått behandling i form av kirurgi, kjemoterapi og/eller stråleterapi.

I begge forsøk ble serum tatt (på dag 0, 14, 28 og 60, og så månedelig) for bestemmelse av antistoff titer.

Tumorrespons ble evaluert første måned etter inklusjon og deretter hver tredje måned ved røntgen thorax, ultralyd av abdomen, CT thorax og CT abdomen.

Vaksinen var komponert av humant rekombinant EGF konjugert med et bærerprotein, P64 *Neisseria meningitides* rekombinant protein.

Resultater:

Man oppnådde høyere antistoffrespons hos de som ble vaksinert med montanide ISA 51 som adjuvans og som fikk prebehandling med lavdose cyclophosphamide før vaksinasjon, sammenlignet med de som fikk alum som adjuvant og cyclophosphamide prebehandling før vaksinasjon.

Cyclophosphamide prebehandling før vaksinasjon fremkalte ingen bedring i antistoff respons. Ingen klinisk toksisitet ble observert.

I løpet av 6 måneder evaluering, viste 12 (30 %) pasienter klinisk og radiologisk stabil sykdom. Tolv måneder etter den første vaksinedosen, hadde to (5 %) pasienter fortsatt stabil sykdom.

Det ble også observert at reimmunisering med EGF når antistoff konsentrasjonen var avtakende, utløste ingen booster effekt (kraftigere og vedlikeholdt antistoff respons).

Våre kommentarer:

Disse resultatene tyder på at denne vekstfaktoren spiller en rolle i fosterutvikling og vekst av tumor, men ikke i normalt voksen vev fysiologi. Dersom dette er tilfelle, kan blokkering av EGF gjennom induksjon av anti-EGF antistoffer påvirke hovedsakelig tumorutvikling, uten uønskede bivirkninger.

Disse resultatene stemmer overens med forfatterens hypotese om at anti-EGF antistoffer blokkerer bindingen mellom EGF og dets reseptor, og dermed resulterer i reduksjon av tumorcelle proliferasjon. Imidlertid kreves det en randomisert fase II forsøk, hvor man ser på effekten av EGF vaksinasjon på overlevelse, og hvor man sammenligner EGF-vaksinerte pasienter med andre typer behandling.

Studien viser altså at vaksinasjon med fem doser av EGF er trygg og immunogenisk, uten toksisitet.

Flere studier har vist at prebehandling med cyclophosphamide før vaksinasjon gir økt antistoffrespons, noe som ikke ble vist i denne studien. Man bør derfor utføre flere prekliniske studier hvor man endrer dosen og tidspunktet for administrering av cyclophosphamide. Dette for å optimalisere dets effekt før vaksinasjon.

"Phase 1 Clinical study of Cyclophilin B Peptide Vaccine for Patients With Lung Cancer"

Rumi Gohara et al. Journal of Immunotherapy 25(5): 439-444, 2002.

I det siste har fremskritt innen molekylærbiologi og cellulærimmunologi i tumorimmunologifeltet resultert i identifisering av et stort antall antigener og epitoper som er gjenkjennelige av HLA klasse I restriktive cytotoksiske T-celler (CTL).

I denne studien har man undersøkt sikkerhet og immunrespons hos pasienter med utbredt lungecancer vaksinert med *CypB* (*cyclophilin B*) peptider kombinert med *IFA* (*MontanideISA-51*).

CypB har to antigene epitoper (CypB₈₄₋₉₂ og CypB₉₁₋₉₉) som gjenkjennes av HLA-A24 restriktive og spesifikke CTL. For å bestemme sikkerheten av CypB utledede peptider og deres evne til å generere antitumor responser, fikk pasienter med utbredt lungecancer vaksinasjoner med disse peptidene og modifiserte varianter av peptidene.

Alle pasienter hadde histologisk fastslått lungecancer og gjennomgikk en komplett klinisk evaluering inklusive røntgen thorax og CT bilder av samtlige tumor. Det ble bekreftet at alle pasienter var HLA-A24⁺. Ingen pasienter hadde fått behandling, steroider, eller andre immunsuppressiva i de fire ukene før start av studien.

Straks og forsinket hypersensitivitet ble bestemt etter henholdsvis 20 minutter og 24 timer ved en hudtest. Dersom straks hypersensitivitet var negativ ble peptidet injisert sub-

kutant. Det var ment at alle pasienter skulle få minst tre vaksinasjoner med 2 ukers intervaller.

Alle kjente sykdomssteder ble evaluert 7 dager etter hver tredje vaksinasjon, og disse funnene ble sammenlignet med funn før vaksinasjonen. Cellulære immunresponser i postvaksinasjon PBMC ble evaluert 7 dager etter hver tredje vaksinasjon. Pasienter som fikk mindre enn 3 vaksinasjoner ble ekskludert fra kliniske og immunologiske evalueringer.

Seksten pasienter med utbredt lungecancer (inoperable stadier IIIa, IIIb og IV) ble behandlet med denne kuren. De histologiske diagnosene var adenokarsinom, plateepitelkarsinom, storcellet karsinom eller småcellet lungekarsinom.

Alle 16 pasienter ble vaksinert med CypB₉₁₋₉₉ eller modifisert peptid, mens bare to pasienter ble vaksinert med det modifiserte CypB₈₄₋₉₂, da straks hypersensitivitet mot CypB₈₄₋₉₂ eller modifisert peptid ble observert i de resterende pasientene.

Ingen forsinket hypersensitivitet ble observert i noen av pasientene før eller etter vaksinasjon. Videre ble kun lokale reaksjoner på injeksjonsstedet observert hos 13 av 16 pasienter. Ellers ingen alvorlige bivirkninger.

Ingen signifikant økning i cellulære responser mot verken peptider eller tumorceller ble observert i postvaksinasjon testing av PBMC hos pasientene.

De 13 pasientene som fikk flere enn tre vaksinasjoner var valgbare til evaluering av klinisk respons ved to tidspunkter, 5 uker etter første vaksinasjon og 11 måneder, som var median observasjonstid i for alle 16 pasienter. Samtlige 13 pasienter hadde stabil sykdom etter 5 uker.

Våre kommentarer:

Resultatene i denne studien tyder på at vaksinasjon med CypB₉₁₋₉₉ peptidet var trygg, med ingen alvorlige bivirkninger, men man mislyktes i å indusere objektive immunresponser med denne vaksinen. Videre tyder resultatene på at CypB₈₄₋₉₂ peptidet inneholder epitoper som gjenkjennes av humane B-celler og, resulterer i rask hypersensitivitet hos mennesker.

”Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor Gene-Modified Autologous Tumor Vaccines in Non-Small-Cell Lung Cancer”

John Nemunaitis et al. Journal of the National Cancer Institute, Vol 96, No.4, February 18, 2004.

Vaksiner som sekreterer granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) har vist større aktivitet enn vaksiner som bruker andre cytokiner. I denne studien ble slike vaksiner (sekreterende GM-CSF) evaluert med tanke på sikkerhet, gjennomførbarhet og effektivitet, i et multisenter **fase I/II forsøk** med pasienter som hadde begrenset og utbredt ikke-småcellet lungekarsinom (NSCLC).

Pasienter ble delt inn i to grupper (A og B). Pasienter i **kohort A** hadde stadium IB eller II NSCLC med planlagt primær kirurgisk reseksjon og ingen pre- eller postoperativ kjemoterapi eller stråleterapi. Pasienter i **kohort B** hadde stadium III eller IV NSCLC med

en tilgjengelig tumor til innhøsting for vaksineprosessering, og ingen kjemoterapi eller stråleterapi innen 4 uker til tumorinnhøsting eller vaksinebehandling.

Pasientene ble vaksinert med autologe tumorceller som ble genetisk modifisert med en **adenoviral vektor (Ad-GM)** til å sekretere human GM-CSF.

Vaksiner ble administrert **intradermalt** hver andre uke for en total av tre til seks vaksiner. Immunrespons av vaksinen og forsinket hypersensitivitet (DTH) hudreaksjon ble bestemt ved måling av indurasjonens diameter. Tumorresponser ble bekreftet ved repeterende billedstudier over 4 uker etter den initiale responsen.

Åttitre pasienter gjennomgikk tumorinnhøsting (20 i kohort A, 63 i kohort B) og 43 startet med vaksinebehandling (10 i kohort A, 33 i kohort B). Alle 10 pasienter i kohort A fullførte vaksinebehandling. Medianen av vaksiner administrert i kohort B var fem.

Den vanligste bivirkningen var en lokalreaksjon på injeksjonsstedet (93 %).

Immunresponser mot vaksinasjonen ble målt ved vaksine- og DTH hudreaksjoner, samt induksjon av tumorreaktive antistoffer.

Resultater:

De fleste pasientene (98 %) hadde anti-adenoviral antistoffer før vaksinasjon, og 95 % hadde en økt anti-adenoviral antistoff titer etter vaksinasjon. Ingen signifikante forskjeller ble vist mellom gruppe A og B som resultat av immunrespons.

Tre av 33 pasienter i kohort B fikk varig, og komplett tumorregresjon, som varte 6 måneder, 18 måneder, og pågående ved 22 måneder. Seks tilbakefall ble observert blant de 10 pasienter i kohort A, med en median oppfølgingstid på 20 måneder. Overlevelse ved 1 år var 39 % blant alle pasienter som gjennomgikk tumorinnhøsting, mens den var 44 % blant behandlede pasienter. Vaksine-assosiert GM-CSF sekresjon var statistisk signifikant assosiert med overlevelse.

Våre kommentarer:

Dette er en bra utført studie og resultatene høres lovende ut. En av denne studiens delmål var å evaluere gjennomførbarhet av sekreterende GM-CSF vaksiner. På grunn av lang ventetid fra innhøsting til vaksinering, hadde man en samlet frafall på 48 %. I fremtidige studier vil en påskyndelse av denne prosessen, resultere i at man får med en større gruppe pasienter som vaksineres og dermed en bedre gjennomførbarhet. GM-CSF gen-modifisert tumorvaksiner har blitt testet i multiple humane krefttyper, og immunologisk aktivitet har blitt observert i samtlige studier. Videre har man påvist objektive tumorresponser i melanomer og nyre celle karsinomer.

KONKLUSJON

Generelt om malignt melanom:

Malignt melanom utvikles fra melanocytter som er ektodermale celler. De fleste krefttilfellene oppstår *de novo*, men det antas at ca. 30 % oppstår fra tidligere nevi. Malignt melanom er den 5. vanligste kreftformen i USA. Kreftformen kan helbredes i 90 % av tilfellene ved tidlige lesjoner. Derimot er prognose for avansert kreft dårlig. Spesielt har det vært fokusert på solesponering i de siste 10 år som årsak til kreftutvikling. Diagnostisering av malignt melanom tar utgangspunkt i form og formforandring av nevi. Det vil si asymmetri, uregelmessige grenser, fargevariasjoner, diameter større enn 6 mm og forandringer av tidligere nevi.

Behandling er hovedsakelig kirurgi. Videre vil interferon- α føre til lengre tid før recidiv uten økt overlevelse hos høyrisiko pasienter. Verken stråleterapi eller kjemoterapi har hatt stor suksess. Med dette utgangspunktet har biologisk terapi vært interessant som alternativ terapi.

Generelt om prostatacancer:

Årlig har vi ca. 3000 tilfeller av prostatakraft i Norge. 1100 dør av prostatakraft. Det antas at en langvarig androgen stimulerig er en forutsetning for å utvikle prostatakraft. Ved PSA verdier større enn 10 foreligger oftest prostatakraft eller prostatitt, mens benign prostatahyperplasi fortsatt er mer vanlig enn prostatakraft ved verdier mindre enn 10. PSA er ikke brukt som vanlig screening i Norge, dels pga. usikkerhet rundt validitet av PSA som diagnostisk verktøy, dels på grunn av konsekvensene av en diagnostisering av symptomfri prostatakraft uten sikre kurative behandlingsmetoder. Diagnostisering foregår fortsatt vanligvis pga. urintømmingssymptomer, akutt urinretensjon, ryggsmelter, hematuri, vekttap, og smerter i rygg pga. metastaser i skjelettet. Pasienten undersøkes ved **rektaleksplorasjon**, ved mistanke brukes **PSA-måling**, så **ultralud**, **histologiske** og **cytologiske prøver**, samt **skjelettscintigrafi** for utredning av eventuelle fjernmetastaser.

Behandling ved progresjon av tilstanden er som oftest **hormonterapi** (*LH-analoger for eksempel goserilin eller buserilin*), ved vannlatingsproblemer utføres **TURP-inngrep**. Kirurgisk kastraksjon (orchiektomi) er også et alternativ. Men før eller siden vil androgenuavhengige cellekloner dominere det kliniske forløpet på tross av androgen ablasjon og man vil få en *fatal progresjon*. Ved en lokal progresjon av tumor kan man også bruke **stråleterapi** enten med et eksternt strålefelt eller med en implantert radioaktivt isotop. Hos menn med forventet ti års overlevelse kan det foretas **radikal prostatektomi**.

Kreftvaksine er derfor særdeles interessant i sammenheng med prostatacancer. Prostatakraft har organspesifikke molekyler bl.a. PSA, PSMA. Prostata er et ikke-essensielt organ. Dessuten er det liten helbredelsesrate etter behandling av primærtumor, og mangel på kjemoterapibehandling for metastaserende tilstander.

Generelt om lungecancer:

Lungekreft er en av få kreftformer hvor etiologien i all hovedsak er kjent. **Sigarettrøyking** er hovedårsak til lungekreftepidemien. I epidemiologiske studier har man funnet at sigaretttrøyking er årsak til 80 % av lungekreft hos kvinner og nærmere 90 % av lungekreft hos menn. Man kjenner til flere andre faktorer som kan øke risikoen for lungekreft, men sammenlignet med sigaretttrøyking gir disse en ubetydelig risikoøkning. Eksempler på slike faktorer er luftforurensning, radoneksponering, asbesteksponering, samt nikkel og kromeksponering.

Lungekreft er den 4. hyppigste kreftform i Norge, men den hyppigste i Norden. I Norge utgjør lungekreft 14 % av årlig antall nye krefttilfeller.

Lysmikroskopisk vurdering av standardpreparerte cytologiske prøver og hematoxylin-eosin fargede snitt fra biopsier og resektater av svulster i lungene er grunnlaget for **diagnostikk** og **klassifisering** av lungekreft. Lungekreft er hovedsakelig **epiteliale svulster**. De maligne epiteliale svulstene deles etter WHO's histologiske klassifikasjon av lungetumores inn i åtte hovedkategorier med subtyper.

Lungekreft metastaserer generelt sett tidlig i forløpet. I og med at svært små primærsvulster kan spre seg, kan metastasene være første tegn til sykdom hos noen pasienter. I noen tilfeller oppdages lungekreft tilfeldig i forbindelse med røntgenundersøkelse i annen sammenheng. Men oftest påvises sykdommen som følge av symptomer. Disse oppstår på grunn av lokal vekst av svulsten eller på grunn av spredning. En del av disse symptomene er ofte hoste, hemoptyse, dyspnoe, luftveisinfeksjoner, smerter.

I klinisk sammenheng opererer man med to hovedtyper lungekreft, småcellet lungekreft (SCLC) eller ikke-småcellet lungekreft (NSCLC). Mens kirurgi er den viktigste kurative behandlingsform ved NSCLC er operativ behandling sjelden aktuell ved SCLC. Ved SCLC er cellegift- og strålebehandling de viktigste behandlingsformer. I løpet av de siste årene er multimodal behandling, det vil si at man kombinerer flere behandlingstyper, blitt stadig mer aktuelt også ved NSCLC. Videre er det i løpet av de siste årene blitt utført en hel rekke kliniske studier på lungekreftvaksine. Denne type behandling vil i fremtiden bli aktuell, kanskje som den viktigste behandlingstypen.

Det er vanlig at lungekreft har dårlig prognose. Bildet er likevel nokså nyansert, med 5 års overlevelse på >60 % i de beste operasjonsmaterialer, til 0 % i grupper med utbredt sykdom.

Fremtidige strategier for T-celle terapi

Vi vil i det følgende prøve å belyse noen problemområder i arbeidet mot utviklingen av en effektiv vaksine. Vi vil også presentere noen teorier om hvorfor det ikke alltid går den rette veien. Til slutt ser vi på nye strategier som sannsynligvis vil prege fremtidens forskning på dette feltet.

Mangel på optimale antigener:

Hovedproblemene ved en vaksine har vært å få en målrettet immunologisk reaksjon rettet mot tumorceller. Dette har man forsøkt bl.a. vha. PSA. Antigenene må ha en affinitet og aviditet som kan underbygge cellekontakt som er en forutsetning for aktivisering for en

cellemediert immunreaksjon. Det er også vært et problem å finne tumorspesifikke antigener da faren for en autoimmun reaksjon selvfølgelig er til stede ved en utvikling av kreftvaksiner. Flere nye tilnærmingsmetoder er idag utviklet for å oppdage nye antigener. Disse metodene går på mRNA og proteinkspresjon. Det dreier seg om proteomicsbaserte metoder (bl.a. kartlegging av proteinsammensetning og intracellulære signalmekanismer), seriereanalyser av genekspresjon (SAGE – finner f.eks. basesammensetning i mRNA), subtraksjon hybridisering (identifisering av beslektede gener i forskjellige typer celler), microarray analyse og PCR-baserte teknikker. Flere nye og kjente gener har vist seg å være uttrykt i økt antall av tumorceller ved hjelp av disse nye tilnærmingene. Kandidatantigener som både er tumorspesifikke, overuttrykt og hvis det viser seg at det allerede fins et immunsvaret mot vil sannsynligvis vise seg å være de beste.

Mangel på passende leveringssystemer:

De fleste kliniske forsøk har brukt DC som utvinnes fra perifer blod mononukleære celler (PBMC). [3] Man finner monocytene som differensierer ex vivo ved hjelp av GM-CSF og IL-4, disse lastes med antigen og injiseres som vaksiner i pasienter.

Men slike DC betegnes som *umodne* og det kan hende disse umodne DC ikke er optimale til å presentere antigen for T-celler eller til å migrere til tumorlokalisasjoner og proksimale lymfeknuter. I tillegg dedifferensierer slike DC raskt i fravær av *cytokiner*. Det er derfor et behov for å bedre protokoller for utvinning av DC.

Å finne den optimale blanding av cytokiner for å stimulere til en cellulær respons står også som en utfordring for fremtiden.

Genetisk modifikasjon av APC åpner muligheten for at APC selv produserer vaksineantigener, cytokiner og kostimulatoriske faktorer. Dette vil trolig gi en mer effektiv antigenpresentasjon til immunsystemet. Flere virusvektorer er i tidlige kliniske studier. En ulempe ved dette er muligheten for et anti-virus T-cellerreaksjon og antistoffreaksjon i vaksinerte pasienter.

Nye metoder i fremtiden vil også inkludere bruk av dendritiske celler og Heat Shock Proteiner (HSP), "microsphere encapsulation", liposomer eller mekaniske leveringssystemer.

"Heat Shock" Proteiner (HSP) [8]

Dette er en stor familie proteiner med varierende vekt og intracellulær lokalisasjon. Felles for dem er at de har et viktig bidrag til cellens homeostase og har derfor blitt konserverv i løpet av evolusjonen. De kalles på engelsk også "**chaperone proteins**" og binder nylig translatiserte peptider slik at de skal få en riktig tredimensjonal folding. Produksjonen induseres ved cellulær stress (som ved "heat shock") for å konservere den riktige foldningen av proteiner. Gjennom forskning på dyremodeller og på mennesker har man blitt klar over flere egenskaper hos denne gruppen proteiner:

De har evne til å binde mange forskjellige typer peptider. Bindingen foregår i en struktur som likner en kløft (binding groove) liknende den hos MHC type I molekyler. De danner komplekser også med peptidprodukter som degraderes og er sannsynligvis aktive deltakere i antigenpresentasjon på MHC type I molekyler.

Det fins bevis på at visse HSP (hsp70 og gp96) har egne reseptorer på dendritiske celler (DC) som medierer opptak i disse cellene. CD91 er en slik reseptor på DC. Ved interaksjon mellom HSP og deres reseptor på DC er det holdepunkter for at det foregår en fenotypisk og funksjonell modning av DC.

Virkningene er bl.a. en oppregulering av MHC type II, CD86 og CD83 ekspresjon og sekresjon av cytokiner som IL-2 og TNF alfa.

”**Cross priming**” er et annet fenomen som er knyttet til denne gruppen proteiner. Begrepet viser til et komplekst system av intracellulær trafikkering hvor eksogene polypeptider internaliseres i spesialiserte intracellulære rom (”compartments”) og peptidprodukter av disse lastes i MHC type I molekyler tilgjengelige for CD8⁺ T-celler.

Dette er uttrykk for en unik egenskap disse proteinene har til å aktivisere både det cytotoxiske CD8 –, og hjelpecelle CD4 – apparatet.

Sammen med det ovenfor beskrevne reseptormederte opptak og maturering er dette uttrykk for en unik immunogenisitet, primært knyttet til hsp70 og gp96. Spørsmålet som da reiser seg er om det går an å sette disse hsp’ene i kompleks med tumorpeptider og dermed utvikle en mer effektiv kreftvaksine. Svaret er ja, og flere forskergrupper har funnet tumorpeptider som danner komplekser med hsp. For malignt melanom har man funnet gp100 og Mart-1.

Kliniske fase I / II–studier med det mål å kartlegge bivirkninger og in vivo immunogenisitet har blitt utført. Dette skjer etter at flere dyremodeller har vist effektivitet av vaksiner med hsp-tumorpeptid-kompleks.

I et klinisk forsøk (Rivoltini et al. (2003) J Immunol 171:3467) ble 23 pasienter vaksinert med gp96-peptidkomplekser isolert fra pasientens egen tumor (malignt melanom). 11 av disse (dvs. 48 %) viste en økning av tumor-spesifikke T-celler evaluert ved IFN- γ ELISpot.

Selv om en slik klinisk studie ikke tillater grundige effektanalyser, ble det funnet en klinisk responsrate på 18 % (regresjon av tumormetastaser hos 2 og stabil sykdom (mer enn 5 måneder) hos 3 stykker).

Det er i dag stor optimisme knyttet til dette perspektivet av tumorvaksiner og håpet er at denne vil bidra til å finne den riktige sammensetningen av en effektiv vaksine.

Identifisering av den optimale leveringsruten (injeksjonssted for vaksine) er et annet forskningsområde. De fleste kliniske forsøk har hittil brukt intravenøs administrering, men nye bevis foreslår at intranodal eller intradermal administrasjon av vaksiner kan være bedre til å fremkalle et T-cellesvar.

Utvikling og/eller identifisering av nye adjuvans kan også tenkes å effektivisere en kreftvaksine. Det er mye fokus på dette.

Manglende evne til å reversere kreftindusert immunsuppresjon og T-celle toleranse:

Kreftceller har utviklet flere mekanismer for å unnslippe immunforsvaret. Eksempler er tap av antigener (antigen loss), nedregulering av MHC og produksjon av immunsupprimerende faktorer. Tumorceller mangler også ekspresjon av kostimulatoriske molekyler som er viktig for aktivering av naive T-celler. I tillegg er det slik, fordi mange tumorantigener også er uttrykt på normale vev, at høyaffinitets T-celler utslettes i seleksjonsprosessen av T-celler og det vil være toleranse in vivo for disse antigenene.

Videre har utfordringen vært å bryte toleransen for tumorcellene enten ved forskjellige adjuvans og cytokiner. Anergi hos lymfocytene er et annet problem som må løses. Dersom disse bare mottar signal 1 vil de utvikle anergi. En mulig løsning på dette har vært å få presentert antigenet på dendrittiske celler vha. vektorer

Det utvikles også strategier for å få tumorcellene til å virke som APC primært ved ekspresjon av kostimulatoriske-, adhesjons- og cytokingener. Her støter man på problemer med å dyrke tumorceller ex vivo og tumorceller som stabilt uttrykker disse genene.

Flere transgene musemodeller har blitt utviklet for å studere tumorantigen-spesifikk toleranse. Tre viktige konklusjoner har blitt trukket fra disse modellene: (i) Det finnes T-celler som er spesifikke for antigener uttrykt av normale celler. (ii) Slike T-celler reagerer vanligvis ikke på antigen uttrykt på celler. (iii) Hvis disse cellen blir aktivert kan de utrydde tumor uten at autoimmunitet nødvendigvis forekommer.

Vi ser derfor at det er essensielt å aktivere tumorspesifikke CD8⁺ og CD4⁺ T-celler. En lovende tilnærming innebærer adoptiv overføring av T-celleimmunitet, altså ikke aktiv, men passiv immunisering. Denne strategien overkommer noen av problemene knyttet til T-celletoleranse ved at T-cellene aktiveres ex vivo.

Adoptiv overføring av T-celleimmunitet [2]

Det fastslås at det til dags dato er allogen transplantsjon av T-celleimmunitet som har vist mest resultater. Dette bedømmes dog ut fra tallmessig få forsøk i forhold til vaksineringsstudier (aktiv immunisering) og baseres for det meste på dyrestudier. Artikkelen oppsummerer videre toleransemekanismer som gjør seg gjeldende mot selv-antigener og som medfører at det bare forekommer lavaffinitets tumorspesifikke T-celler. Men det understrekes også at selv-toleranse ikke er noe absolutt, og at flere faktorer spiller inn slik at den varierer avhengig av selv-epitoper på MHC-molekylet og vevstype som presenterer antigen.

Neste avsnitt presenterer begrepene graft mot vert sykdom (GVHD) og graft mot tumor (GVT) respons. Det er en sterk korrelasjon mellom disse to reaksjonene så man har lenge trodd at det er to sider av samme sak. Men det er i noen tilfeller observert at GVT kan forekomme uten GVHD og derfra utledet at det må være forskjellige effektorceller for de to reaksjonene. Det presenteres videre indisier på at minor histocompatibility (mH) antigens kan være sentrale i GVT-responser. mH-antigener er MHC-bundne immunogene peptider og kan gjenkjennes av donor T-cellerpopulasjoner og man har funnet et økende antall mH-antigener som uttrykkes vevsspesifikt. Videre har man begynt å finne mH-antigener som er tumorspesifikke, og forfatteren håper at det snart skal klarlegges hvilke mH-antigener som kan knyttes til GVHD og hvilke som gir GVT-respons.

Selektive GVT-effekter kan også medieres ved T-cellegjenkjennelse av muterte eller overuttrykte antigener. Dette har blitt visualisert (f.eks. har proteinase 3 økt uttrykk i kronisk myelogen leukemi) ved hjelp av MHC-tetramer teknologi.

Denne metoden åpner også for bruk av definerte T-cellepopulasjoner, f.eks. T-celler spesifikke for MART-1. Men strategien er også begrenset på to områder: (i) T-celler som hittil er identifisert er ikke så effektive som effektorceller. (ii) grunnet begrensninger med in vitro protokoller er det en vanskelig og tidskrevende prosess å utvinne T-cellepopulasjoner og å finne MHC-forlikelige pasienter.

Siste del av artikkelen omhandler T-cellereseptor (TCR) genoverføring, noe som vi igjen skal se på i neste artikkel. T-celler forandret med TCR genoverføring er fullt funksjonelle etter overføring til mus, og disse cellene har en formidabel evne til å ekspandere når de får antigenkontakt in vivo. Et problemområde ved TCR genoverføring er **autoimmunitet**, fordi de overførte T-cellegener vil sammen med de opprinnelige kunne danne kombinasjoner og resultere i TCR av ukjent type.

For å få tak i TCR av riktig spesifisitet kan man bruke forskjellige metoder. Man kan f.eks. utvinne TCR spesifikke for MAGE fra pasienter som responderer på immunoterapi eller fra kreftpasienter som viser immunoterapiassosiert vitiligo. Man kan videre også bruke metoder som baserer seg på HLA-inkompatibilitet, mH-antigen-ulikhet og transgene mus.

Det gjøres fremskritt også når det gjelder genmodifisering av T-celler, og vi vil derfor presentere et eksempel på dette.

”Genetisk modifikasjon av humane T-lymfocytter med nakent DNA” [7]

Her presenteres et forsøk hvor periferblod mononukleære celler (PBMC) skaffes fra normale donorer. Cellene blir så aktivert med anti-CD3 MAb (OKT3 er navnet på reagen-set), man får så T-cellekloner som er TCR α/β + CD4+CD8- og CD4-CD8+. Disse cellene elektroporerer i tilstedeværelse av plasmid. Plasmidet inneholder et lokus som koder for en CD20-spesifikk chimerisk immunreseptor (scFvFc:ζ). Plasmidet rettes så ut slik at det blir linjært.

Man tilsetter så et stoff (G418) som skal bidra til å selektene celler positive for scFvFc:ζ. Etter det følger kloning og ekspansjon av disse cellene.

Cellene ble senere undersøkt for cellemembranens fenotype (ved hjelp av FACS) og man fant at det enten var TCR α/β + CD4+CD8- eller CD4-CD8+. Man gikk så videre med fluorescence in situ hybridisering (FISH) – studier av ni representative kloner og fant at plasmidet var integrert ett sted i cellene, dog forskjellige steder i forskjellige kloner. De ni klonene ble senere undersøkt ved Southern blot-teknikk som også viste at plasmid-DNA var integrert i kun ett sted i cellen. Western blot av det samme materialet med et anti-humant zetakjedespesifikt primært antistoff ble gjort. Klonene viste varierende mengde av chimerisk immunoreseptorekspresjon varierende fra nesten ingenting til større enn den endogene produksjonen av zetakjeder. Ved ekspansjon viste ekspresjonsmengden på hver enkel klon seg å være stabil.

Forsøket har, etter forfatterens mening, introdusert en ny og bedre måte å genmodifisere T-celler på. Hittil har det nesten bare vært brukt retrovirale vektorer til dette. Retrovirale vektorer har begrenset med plass for innlasting av rekombinant DNA og er i tillegg avhengig i pakkecellens mRNA-prosesserings-apparat. Plasmidvektorer kan produseres på mindre enn en uke og er svært stabile i lagret tilstand, mens produksjon av virale vektorer er mer tid- og ressurskrevende. Bruken av plasmidvektorer har hittil vært begrenset av lav grad av plasmidtransfeksjon til T-celler samt toksisiteten mot primære celletyper som er knyttet til mange av transfeksjonsreagensene. Forskergruppen er derfor veldig stolte over at de har klart å unngå alle disse problemene ved bruk av elektroporering. Teorien er at den elektriske strømmen danner midlertidige porer i cellemembranen som det linjære plasmid-DNA kan svømme gjennom.

Dette forsøket benyttes nå som utgangspunkt for en fase I klinisk studie. T-cellene vil bli bearbeidet på samme måte som over og undersøkt på ekspresjon av terapeutisk CD20-spesifikk scFvFc:ζ chimerisk immunreseptor. Cellene vil så bli injisert i pasienter med

residiverende/refraktær CD20+ diffuse storcellet lymfom etter autolog stamcelletransplantasjon.

Fortsatt står mange spørsmål uløste i forhold til både toleranseutvikling, anergi og muligheter for å utløse komplement reaksjoner overfor tumorceller. Videre vil stadig nye mer tumor spesifikke antigener utvikles. Det må også sees på de praktiske muligheter for å blokkere CTLA4 ved anti-CTLA4 og derigjennom forlenge T-celleresponsen. Kanskje må forståelsen av immunologiens mekanismer også på sikt justeres.

Slik vi ser det gjennom de presenterte artikler er de objektive kliniske resultater lite sensasjonelle og ikke alltid samsvarende med de ”intermediære enderesultater” (ELISpot, hudrespons, etc.) i eksperimenter med kreftvaksine. Men det er samtidig viktig å vite at denne typen forskning ennå er i sin barndom og at det ikke er utført nok fase III undersøkelser som har som mål å sette ny behandlingsmetode opp mot gjeldende behandling. Det er mest **fase I – og fase II – forsøk** som har forefunnet og disse har hatt som primært mål å finne riktig dosestørrelse og toksisitet og har følgelig kun blitt gjort på pasientkvanta som regnes som svært magre i et fase III forsøk. Dessuten er pasientgruppene for det meste bestående av **terminale pasienter** som kan ha mistet evnen til å gi et tilfredsstillende immunsvær, enten pga. sykdommen eller tidligere behandling (cytostatika). Sett på denne bakgrunn mener vi at de fase I og fase II forsøkene som er blitt foretatt viser at pasientene ikke har hatt alvorlige toksiske reaksjoner eller autoimmune responser som kunne truet en videre utvikling av en biologisk behandlingsmetode.

Imidlertid er det tydelig at en rekke **variabler må optimaliseres** for effektiv anvendelse av T-cellebasert vaksinasjon mot cancer. Dette gjelder spesielt protokoller, administreringsform, bruk av og type adjuvanter samt dosering av vaksinen. Videre er en **randomisering** av forsøkene i forhold til tolkning av resultatene nødvendig. Dessuten er det ønskelig med **større pasientpopulasjoner**. De kliniske resultatene er sprikende blant de forsøkene som er utført til nå. Dette vanskeliggjør også en sammenligning av resultatene. Dette er et problem som antagelig vil overkommes ved standardiserte protokoller og randomiserte forsøk med større pasientpopulasjoner.

REFERANSER

1. Berd et al, "*Immunopharmacologic Analysis of an Autologous, Hapten-Modified Human Melanoma Vaccine*" Journal of clinical oncology (vol.22, no.3, 2004)
2. Helmut W.H.G Kessels et al, "*Adoptive transfer of T-cell immunity*", Trends in immun vol.23 no. 5, 2002.
3. Slingluff et al, "*Clinical and immunologic results of a randomized phase II trial of vaccination using four melanoma peptides either administered in granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in adjuvant or pulsed on dendritic cells*", J clin oncol (21:4016-4026, 2003).
4. Walker et al, "*gp100-209-2M peptide immunization of human lymphocyte antigen-A2+ stage I-III melanoma patients induces significant increase in antigen-specific effector and long-term memory CD8+ T cells*", Clinincal cancer research (vol.10, 668-680,2004).
5. Lotem et al, "*Interleukin-2 improves tumor response to DNPmodified autologous vaccine for the treatment of metastatic malignant melanoma*", British j of cancer (773-780, 2004).
6. Renkvist et al, "*A listing of human tumor antigens recognized by T cells*", Canc immunol immunother (50:3-15, 2001)
7. Jensen et al, "*Human T lymphocyte genetic modification with naked DNA*", Molecular therapy (vol.1, no.1, 2000).
8. Castelli et al, "*Heat shock proteins: biological functions and clinical application as personalized vaccines for human cancer*", Cancer Immunol Immunother (2004, 53: 227–233)
9. Michael Kalos, "*Tumor antigen-specific T cells and cancer immunotherapy: current issues and future prospects*", Vaccine (volume 21, issues 7-8, 2003)
10. Sosman et al, "*When will melanoma vaccines be proven effective*", Journ of clin onc (vol.22, no.3, 2004).
11. National cancer institute, "*Closing in on cancer – Solving a 5000-Year-old Mystery*", www.cancer.gov.
12. National cancer institute, "*Treating cancer with vaccine therapy*" www.cancer.gov.

13. Tina Thomas et al, "*Cancer vaccine primer*", www.cancer.gov.
14. National cancer institute, "*Treating and preventing cancer with vaccines*", www.cancer.gov.
15. National cancer institute, "*What is a clinical trial*", www.cancer.gov.
16. National cancer institute, "*Treating cancer with vaccine therapy*", www.cancer.gov.
17. M Ahmad et al, "*Escape from immunotherapy: possible mechanisms that influence tumor regression/progression*", *Cancer Immunol Immunother* (2004) 53: 844-854
18. Rolf Kåresen og Erik Wist, *Kreftsykdommer – en basis bok for helsepersonell*, 1. utgave, 2000.
19. Bjarne Bogen og Ludvig A. Munthe, *Immunologi*, 2000.
20. Tor Lea, *Basal og klinisk immunologi – prinsipper og molekylære mekanismer*, 2. utgave, 2000.
21. Philip Rubin's *Clinical oncology: A multidisciplinary approach for physicians and students*, 8th edition, 2001.
22. Finn Geneser, *Histologi – på molekylærbiologisk grundlag*, 1. utgave, 1999.
23. Benestad, *Kompendium i cellesyklus, vekst og differensiering*.
24. Henrik S. Huitfeldt, *Cellulær skade og celledød*.
25. Kumar, Cotran, Robbins, *Basic Pathology*, sixth edition, 1997.
26. Heidi Kiil Blomhoffs, *Forelesningsnotater*.
27. Vassiliy J Assikis, Jonathan W. "*Novel therapeutic strategies for androgen-independent prostate cancer: an update*", *Seminars in oncology*: volume 31, 2004 nr. 2, suppl. 4 side 26-32.

Bildet på forsiden er ved *Dorling Kindersley* og er hentet fra *Encarta Encyclopedia Deluxe 2004* (CD-rom).